

**ZUR PHOTOMETRISCHEN BESTIMMUNG
DES BINDEGEWEBSEIWEISSFREIEN
FLEISCHEIWEISSES IN FLEISCHERZEUGNISSEN**

Klaus Gebhardt

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555626_0014

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie der
Lebensmittel tierischen Ursprungs der Universität München

Fachbereich Tiermedizin

Vorstände : Prof. Dr. Dr. h.c. L. Kotter und Prof. Dr. G. Terplan

ZUR PHOTOMETRISCHEN BESTIMMUNG DES BINDEGEWEBSEIWEISSFREIEN
FLEISCHEIWEISSES IN FLEISCHERZEUGNISSEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians Universität München

von
Klaus Gebhardt
aus
Isny

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan : Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent : Prof. Dr. Dr. h. c. L. Kotter
Korreferent : Priv.-Doz. Dr. U. Lösch

Tag der Promotion : 21. Februar 1975



IN DANKBARKEIT MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATUR	2
I. Allgemeines zur Photometrie	2
II. Photometrische Auswertung der Lichtabsorptionsmessung in der Lebensmittelüberwachung	3
III. Die Proteine des Muskels	4
1. Wasserlösliche Muskelproteine	4
2. Wasserunlösliche Muskelproteine	5
3. Einfluß von Salzen auf die Löslichkeit und Extraktion	7
4. Bedeutung des Zerkleinerungsgrades	8
5. p_H -Wert und Extrahierbarkeit	9
6. Einfluß der Temperatur auf die Extrahierbarkeit	10
7. Veränderung der Extrahierbarkeit während der Fleischreifung	11
IV. Qualitätsbeurteilung von Fleisch- erzeugnissen	11
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	23
I. Voruntersuchungen	23
1. Material und Methodik	23
2. Ergebnisse	24

	Seite
II. Hauptversuch	31
1. Material und Methodik	31
a. Untersuchungen von Fleisch	31
b. Untersuchungen von Modellchargen	34
c. Untersuchung handelsüblicher Rohwürste	43
d. Untersuchung handelsüblicher Brühwürste	44
e. Untersuchung an Chargen unbekannter Rezeptur und Herstellung	46
D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	50
E. DISKUSSION	66
F. ZUSAMMENFASSUNG	71
G. LITERATURVERZEICHNIS	73
LEBENS LAUF	

A. EINLEITUNG

Zu den wertbestimmenden Anteilen von Fleischerzeugnissen gehört vor allem die Skelettmuskulatur. Bei der Beurteilung von Erzeugnissen aus zerkleinertem Fleisch stellt sich deshalb die Frage, ob ausreichend Skelettmuskulatur enthalten ist. Die Frage versuchte man bisher indirekt über die Bestimmung von Wasser, Fett, Asche, Bindegewebs-eiweiß sowie Fremdeiweiß und eiweißfreier N-Verbindungen zu beantworten.

Mir wurde die Aufgabe gestellt zu prüfen, inwieweit durch photometrische Auswertung das bindegewebs-eiweißfreie Fleischeiweiß (BEFFE) in Fleisch-erzeugnissen direkt zu ermitteln ist.

B. LITERATUR

I. Allgemeines zur Photometrie

Alle optischen Methoden in der analytischen Chemie basieren auf der Wechselwirkung zwischen Licht und Materie.

Unter Licht ist das Spektrum der elektromagnetischen Strahlung, ausgehend vom Mikrowellenbereich über den Bereich des Infrarotlichtes, des sichtbaren Lichtes und des UV-Lichtes bis zum Röntgenlicht zu verstehen.

Die Wechselwirkungen zwischen Licht und Materie sind durch Absorption, Emission und Brechung von Licht sowie durch Drehung von linear polarisiertem Licht zu erkennen.

Bei der Absorption kann Energieaufnahme durch die Materie durch Beeinflussung der Rotation von Molekülen und der Schwingungen einzelner Atome oder Atomgruppen sowie durch Anheben eines Elektrons auf ein höheres Energieniveau erfolgen (52).

Als Transmission bezeichnet man die Lichtdurchlässigkeit des Materials in Prozent zur Absorption. Bei einer Absorption von 0 ist die Transmission 100.

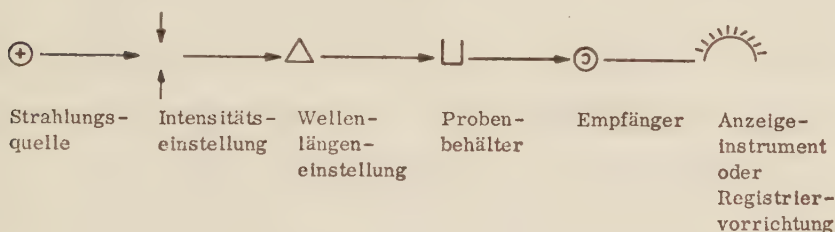
Bei der Lichtemission müssen die Atome oder Moleküle zunächst in einen angeregten Zustand gebracht werden. Beim Übergang in einen energieärmeren Zustand wird Energie in Form von Licht frei. Die Anregung kann auf verschiedene Arten erfolgen.

Die Brechung ist für einen Stoff eine spezifische Konstante. Sie kann deshalb zur Identifizierung chemischer Substanzen und zur Klärung chemischer Strukturprobleme herangezogen werden (52). Das Drehvermögen ist bei optisch aktiven Verbindungen, unter definierten Bedingungen gemessen, konstant und wird u. a. zur Charakterisierung organischer Verbindungen benutzt (52).

Die gebräuchlichsten Apparaturen zur Messung der Lichtabsorption sind Kolorimeter und Photometer.

Nach KORTÜM (35) unterscheidet man zwischen Kolorimetrie (Konzentrationsbestimmung eines farbigen Stoffes, in der Regel visuell), Photometrie (vergleichende Messung von Lichtintensitäten durch veränderliche Schwächung des einen Lichtstrahles oder durch Umwandlung in elektrische Energie) und Spektrometrie (qualitative Messung in Abhängigkeit von der Wellenlänge).

Der prinzipielle Aufbau aller Geräte ist ähnlich (Abb. 1)



Beim Vergleich mit gravimetrischen oder titrimetrischen Analysenverfahren ergeben sich für die Photometrie folgende Vorteile : Es sind sehr kleine Konzentrationen erfaßbar, die Analysenlösung muß nicht immer als Reinsubstanz vorliegen, da Störungen durch die Blindprobe erfaßt werden können, und rasches Arbeiten in Reihenversuchen.

Die Nachteile der Methode sind etwas größere Zufallsfehler und die Gefahr, systematische Fehler zu übersehen (52).

II. Photometrische Auswertung der Lichtabsorptionsmessung in der Lebensmittelüberwachung

Die Lichtabsorptionsmessung findet vor allem in der quantitativen Analyse (Bestimmung von Lebensmittelbestandteilen oder Zusatzstoffen) breite Anwendung. Methodisch wird in der Regel zuerst eine Farbreaktion durchgeführt.

In der Praxis wird mit Kontrollchargen bekannter Zusammensetzung eine Eichkurve bzw. bei einer Geraden ein Umrechnungsfaktor ermittelt. Aus der Extinktion einer Probe unbekannter Zusammensetzung kann dann mit der entsprechenden Eichkurve bzw. dem Umrechnungsfaktor die Konzentration einzelner Bestandteile quantitativ ermittelt werden.

Dieses Verfahren wird z.B. bei der Hydroxyprolin-, Tryptophan- und Milcheiweißbestimmung angewandt.

III. Die Proteine des Muskels

Der Hauptteil des Gesamteiweißes ist bei den Wirbeltieren in der quergestreiften Muskulatur enthalten. Der Skelettmuskel besteht annähernd zu 75 % aus Wasser, 18 % aus Proteinen, 3,5 % aus eiweißfreien Substanzen und 3 % aus Fett (49). Die einzelnen Muskelproteine setzen sich zusammen aus 20 % Myogen, 20 % Globulin x, 40 % fibrilläre Muskeleiweißkörper, 0,6 % Myoglobin und 20 % Stroma (96).

1. Wasserlösliche Muskelproteine

Aus zerkleinertem und mit dem gleichen Volumen Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung (physiol. NaCl) vermischem Muskelfleisch läßt sich nach einer Stunde ein Saft auspressen, der alle Enzymkomponenten des glykolytischen Systems, die Eiweißkörper des Sarkoplasmas und z.T. die Sarkosomen enthält (61). In dem auf diese Art gewonnenen Gewebesaft fand VON FÜRTH (18) ein Protein mit Albumineigenschaften, das er Myogen nannte. Später beschrieb WEBER (95) ein Myogen, das aufgrund seiner starken Wasserlöslichkeit bereits im Muskel gelöst vorliegt und daher schon aus unzerkleinertem Material extrahiert werden kann. BARANOWSKI (3) konnte aus Muskelpreßsaft Myogen A und B gewinnen. Myogen A stellt 20 % von der Gesamtmyogenfraktion und besitzt eine Löslichkeit von mehr als 30 % (3, 96).

DWORNIKOWA (15) spaltete das Myogen A (p_H 6,4 - 6,5) und das einheitliche Myogen B (p_H 5,8 - 5,9). Der isoelektrische Punkt (i. P.) liegt bei beiden im Bereich von p_H 6,2 - 6,5. Ein weiteres Albumin wurde von BATE-SMITH (5) durch die Darstellung des Myoalbumins gefunden. Da sein Anteil beim embryonalen und atrophischen Muskel erhöht ist, wird ihm eine Rolle im Aufbau von anderen Muskelproteinen zugeschrieben (10). Myoglobin ist dem Hämoglobin nahe verwandt. Als Chromoproteid besteht das Myoglobinmolekül aus einem Hämatinkern und einem Globin als Proteinkomponente. Vom Hämoglobin unterscheidet es sich durch ein geringeres Molekulargewicht und eine andere Globinstruktur. Im Rindermuskel wurden 3 - 4 verschiedene Myoglobine gefunden, die sich durch den Globinrest unterscheiden (21, 33, 67).

Das kontraktile System des Muskels besteht aus drei Teilen Myosin und einem Teil Actin (87). Der Anteil des von STRAUB (83) entdeckten Actins am Gesamtproteingehalt des Muskels beträgt 12 - 15 % bzw. 1 g Muskel enthält 25 - 30 mg Actin (23, 89). Es ist vor allem in der I-Bande lokalisiert, wird aber auch im Bereich der A-Bande gefunden (30, 62). Das Actin kommt in einer globulären (G-Actin) und in einer fibrillären (F-Actin) Form vor (87). Nach HASSELBACH und SCHNEIDER (23) geht Actin bei $p_H > 6$ in jedes wässrige Extraktionsmittel über, wenn der Muskelbrei 2 - 4 min homogenisiert wird. STRAUB (83, 84) isolierte Actin aus dem Rückstand nach erschöpfender Extraktion des L-Myosins mittels einer alkoholischen Nachextraktion und anschließender Acetontrocknung. Durch Behandlung des alkalischen Rückstandes nach der Straub'schen Darstellung mit Butylalkohol (91) oder durch Extraktion des myosinfreien Muskelbreies mit Kaliumjodid und ATP (88) gelang es reines Actin zu isolieren.

2. Wasserunlösliche Muskelproteine

MEYER und WEBER (55) fanden ein im Sarkoplasma gelöstes Protein mit Globulineigenschaften, das sie Globulin x nannten. Es besitzt mit 20 % einen relativ hohen Anteil am Gesamtproteingehalt (96). Durch Ausfällen in sehr

schwachen Salzlösungen läßt sich eine Trennung des Globulin x von den Myogenen und Myosinen erreichen (69). Die Myosine, aus globulären Unter-einheiten aufgebaut, bilden die wichtigsten Strukturproteine des Muskels. Ihr Anteil am Gesamteiweiß der Muskulatur beträgt etwa 40 % (53). Die Löslichkeit der Myosine ist vom p_H - Wert und der Ionenstärke der Salzlösungen abhängig. Nahezu alle Myosine sind in Salzlösungen mit Ionenstärke größer als $I = 0,35$ bei p_H 7,4 löslich (17). Das von WEBER (93), EDSALL (16) und MURALT (58) dargestellte "Myosin", das mit dem Myosin früherer Untersuchungen identisch war, konnte in der Folgezeit differenziert werden. Durch die Einteilung in actinfreies bzw. actinarmes Myosin, Actomyosin und Tropomyosin wird die Myosin-Gruppe übersichtlicher (61). Mit der Ultrazentrifuge konnten SCHRAMM und WEBER (79) das Myosin in eine leichtere (L-Myosin) und schwerere (S-Myosin) Komponente trennen. Später zeigte sich, daß es sich bei L-Myosin um ein actinfreies Myosin (L-Myosin von SCHRAMM und WEBER) und bei S-Myosin um Actomyosin (Myosin B) handelt (96, 97). Actinfreies bzw. actinarmes Myosin ist auf die A-Bande der Myofilamente beschränkt. Ob es das einzige strukturelle Protein in dieser Zone ist, konnte noch nicht befriedigend geklärt werden (29). Mit starken pyrophosphathaltigen Extraktionslösungen konnten HASSELBACH und SCHNEIDER (23) aus der Hintergliedmaßenmuskulatur von Kaninchen 38 % L-Myosin isolieren. BAILEY (2) fand mit dem Tropomyosin ein weiteres fibrilläres Muskelprotein, dessen Anteil am Gesamtproteingehalt des Muskels 3 - 6 % betragen soll. In der Aminosäurezusammensetzung und in der α -Helix-Konfiguration ist es dem Myosin sehr ähnlich. Da es außerdem besonders in der Muskulatur von jungen Tieren vorkommt, wurde es von BAILEY (2) als Vorstufe des Myosins angesehen. Die Extraktion von Tropomyosin, Actin und einer nicht identifizierten Komponente C aus der Myofilbrille war von dem Verschwinden der Z-Linie und der I-Bande sowie einer Aufhellung und Verbreiterung der H-Bande begleitet (9). Das Tropomyosin ist an den strukturellen Proteinen mit 10 - 12 % beteiligt (9, 62). Im Gegensatz zu Myosin und Actin erweist sich Tropomyosin gegen denaturierende Substanzen als sehr widerstandsfähig (92). Bei p_H - Werten über 6,5 oder unter 4,5 ist es in Wasser oder verdünnten

Salzlösungen löslich (2). Werden Lösungen von F-Actin und Myosin zusammengebracht, so assoziieren sie zum Actomyosin. Diese Assoziation ist mit einer Erhöhung von Viskosität und Strömungsdoppelbrechung verbunden, die jedoch weniger auf die Zunahme der Partikelgröße als auf der Bildung eines Netzwerkes durch das Actomyosin beruht. Bei gänzlicher Abwesenheit von Salzen und genügend hohen Proteinkonzentrationen bildet Actomyosin ein elastisches Gel, das zu einer glasigen Masse anschwillt (87). Actomyosin kann ebenso wie Myosin durch Säuren isoelektrisch ausgefällt werden (87). In salzfreier Lösung liegt der isoelektrische Punkt (i. P.) bei p_H 5,6. Er läßt sich durch Zusatz von Salzen verschieben (73). Die Eigenschaften des Actomyosins hängen davon ab, ob es sich im Sol- ($I \geq 0,3$) oder Gelzustand ($I < 0,3$) befindet (61). In Actomyosinsolen nehmen bei Zusatz von ATP Strömungsdoppelbrechung und Viskosität ab. Dieser Erscheinung ist mit der Dissoziation des Actomyosins in Actin und Myosin durch ATP zu erklären (59, 81). Bei längerem Stehenlassen von Actomyosinlösungen tritt auch ohne Zusatz von ATP oder ähnlich wirkenden Substanzen Dissoziation ein, die bei Ionenstärke $I \geq 1$ oder p_H -Werten über 7,0 beschleunigt wird (17, 31, 68). In einer neutralen oder schwach alkalischen 0,5 molaren KCl-Lösung ist der größte Teil der Muskelproteine löslich. Der unlösliche Rest wird als Stroma (salzunlösliche Muskelproteine) bezeichnet, dessen Anteil am Gesamtproteingehalt des Muskels annähernd 20 % beträgt und sich aus Skleroproteinen, Kollagen, Elastin und Retikulin zusammensetzt (55, 96).

3. Einfluß von Salzen auf Löslichkeit und Extraktion

Bei den im Muskel herrschenden Ionenstärken $I = 0,25$ liegen außer Globulin x die globulären Proteine in gelöstem Zustand vor (69). Sie sind mit Wasser oder verdünnten Salzlösungen leicht zu extrahieren (1). Für das In-Lösung-Gehen von fibrillären Muskeleiweißkörpern sind dagegen höhere Ionenstärken notwendig (96). Die Löslichkeit von Eiweiß ist eine Funktion der Ionenstärke. Beim Einsalzeffekt erhöhen einwertige Anionen die Löslichkeit stärker als

mehrwertige. Salze mit mehrwertigen Anionen sind beim Aussalzeffekt wirksamer als solche mit einwertigen. Salze mit mehrwertigen Kationen sind von geringerer Wirkung als solche mit einwertigen (54). Bis zu einer Konzentration von 10 % NaCl besteht eine lineare Beziehung zwischen Extraktionsausbeute und Salzkonzentration (4). Eine umfassende Darstellung über die Extraktionswirkung verschiedener Salze auf Muskeleiweiß wurde von KOTTER (38) gegeben. Zwischen Kochsalz, Orthophosphaten, Citraten, Laktaten und anderen Salzen konnten keine statistisch gesicherten Unterschiede festgestellt werden. Das "extraktionsaktive" Verhalten der kondensierten Phosphate, die die Extraktionsausbeute der anderen Salze um ein vielfaches übertrafen, führt KOTTER (38) auf eine Dissoziation des Actomyosins zurück. Auch FUKAZAWA, HASHIMOTO und YASUI (19) konnten die Menge des aus intakten Muskelfibrillen mit einer 0,6 molaren physiol. NaCl-Weber-Edsall-Lösung extrahierbaren Proteins durch Zusatz von Phosphaten (Pyrophosphat, Tripolyphosphat und Hexametaphosphat) in den geprüften p_H Bereichen 5,6; 6,4 und 7,0 erhöht werden. Von KOTTER und TERPLAN (43) wird die Möglichkeit einer indirekten Ionenstärkeerhöhung diskutiert, durch die das In-Lösung-Gehen von salzlöslichen Muskeleiweißkörpern begünstigt wird. Eiweißkörper und Kohlenhydrate sollen freies Wasser durch Hydratation im Lösungsraum immobilisieren und dadurch die Elektrolytkonzentration in diesem erhöhen.

4. Bedeutung des Zerkleinerungsgrades

Selbst durch mehrtägige Extraktion sind aus unzerkleinerter Muskulatur nur L-Myosin und die wasserlöslichen Proteine herauszulösen (1). Erst nach Behandlung der Muskelfasern mit Feinzerkleinerungsgeräten erscheint Actin in der Extraktionslösung (23).

KOTTER (38) und GROTHAUS (22) machten die Beobachtung, daß aus gewolfem Material mit physiol. NaCl-Lösungen in den ersten 20 Stunden post mortem wesentlich mehr Myosin extrahiert werden konnte als nach Zerkleinerung im Starmix. Bei der Extraktion mit pyrophosphathaltigen Lösungen wurde jedoch durch intensive Zerkleinerung stets eine Steigerung

der Myosinausbeute erzielt. Bei Salzkonzentrationen $> 0,22$ mol soll jedoch eine Superpräzipitation ausbleiben, da in so starken Salzlösungen das Actomyosin dissoziiert zu sein scheint (87). GROTHAUS (22) führt als mögliche, auch von PRÄNDL (66) akzeptierte Erklärung an, daß die starke Dispergierung des zum Teil noch ungelösten Actomyosins dessen ATPase-Aktivität steigert, und deshalb die extraktionsfördernde Wirkung des ATP rascher abnimmt. Einen weiteren Beweis sieht er in der Tatsache, daß in Gegenwart von Pyrophosphat trotz stärkerer Zerkleinerung die Ausbeute an Myosin erhöht wird, da offenbar durch den raschen ATP-Abbau die Bindungsmöglichkeit für das dissoziierend wirkende Pyrophosphat vermehrt wird.

5. p_H -Wert und Extrahierbarkeit

Das Eiweiß besitzt im isoelektrischen Punkt (i.P.) ein Minimum an Löslichkeit, Viskosität und Quellbarkeit (bei unlöslichen Eiweißkörpern), bzw. ein Maximum an Fällbarkeit und Kristallisationsfähigkeit (20). Die Ausfällung des Proteins im i.P. dürfte mit der Bildung salzähnlicher Brücken zwischen den sauren und basischen Gruppen benachbarter Peptidketten zu erklären sein. Eine Zugabe von Säuren oder Basen erhöht wieder die Löslichkeit des im i.P. ausgefällten Proteins (24). NaCl verbessert die Löslichkeit von fibrillären Muskelproteinen nicht nur durch seine ionenstärkeerhöhende Wirkung, sondern auch durch eine Verschiebung des i.P. zur sauren Seite (42). Mit steigenden Salzkonzentrationen vergrößert sich der Abstand vom aktuellen p_H -Wert zum i.P., der bei ungesalzenem Fleisch ungefähr bei p_H 5,3 liegt, bei mit 6 % NaCl behandeltem Fleisch bei p_H 4,35 ein Maximum erreicht und bei weiterem Salzzusatz wieder zur alkalischen Seite verschoben wird (60). Die Veränderungen bei den wasserlöslichen Proteinen beginnen nach TRAUTMANN (90) zwischen p_H 6,5 und 6,0 mit der Löslichkeit. Bei p_H 5,0 sind mindestens 80 % der fibrillären Proteine unlöslich.

SAFFLE und GALBREATH (70) konnten durch Einstellen des p_H -Wertes auf 5,5, 6,0 und 6,5 den Anteil der salzlöslichen Proteine bei der Extraktion von 35,99 % auf 38,89 und 42,35 % steigern.

6. Einfluß der Temperatur auf die Extrahierbarkeit

Temperaturänderungen beeinflussen die Dissoziation der verschiedenen Gruppen eines Proteins, die Kräfte zwischen Proteinmolekülen in festem Zustand und gelösten Protein- und Lösungsmittelmolekülen sowie die Wirkung verdünnter und konzentrierter Salzlösungen als Lösungs- und Fällungsmittel. Im allgemeinen nimmt die Proteinlöslichkeit in verdünnten Salzlösungen bei Temperaturerhöhungen zu und in konzentrierten Salzlösungen ab. Es gibt jedoch keine allgemein gültige Regel, da verschiedene Proteine ein entgegengesetztes Verhalten zeigen (54). STROBL (86) konnte bei gelagertem Fleisch mit NaCl-Extraktionslösungen bereits bei 20° C eine Abnahme der Extraktionsausbeute feststellen und zwar um annähernd 2 %. Bei Verwendung pyrophosphathaltiger Extraktionslösungen oder Warmfleisch wurde dagegen die Extrahierbarkeit erst bei Temperaturen von 40 - 45° C deutlich beeinflusst.

CHAUDHRY, PARRISH und GOLL (8) untersuchten die postmortalen Löslichkeitsveränderungen der Sarkoplasmaproteine bei Lagertemperaturen von 25 und 37° C. Sowohl bei Kaninchen als auch bei Rindermuskulatur nahm bei 37° C die Löslichkeit mit zunehmender Lagerzeit ab. Eine Abhängigkeit der Extrahierbarkeit von der Aufbewahrungstemperatur ist auch bei den fibrillären Proteinen feststellbar. Nach einer 13tägigen Lagerung bei 25° C konnte aus Rindermuskulatur 3 - 4 mal mehr extrahiert werden als unmittelbar nach dem Tode (8).

7. Veränderungen der Extrahierbarkeit während der Fleischreifung

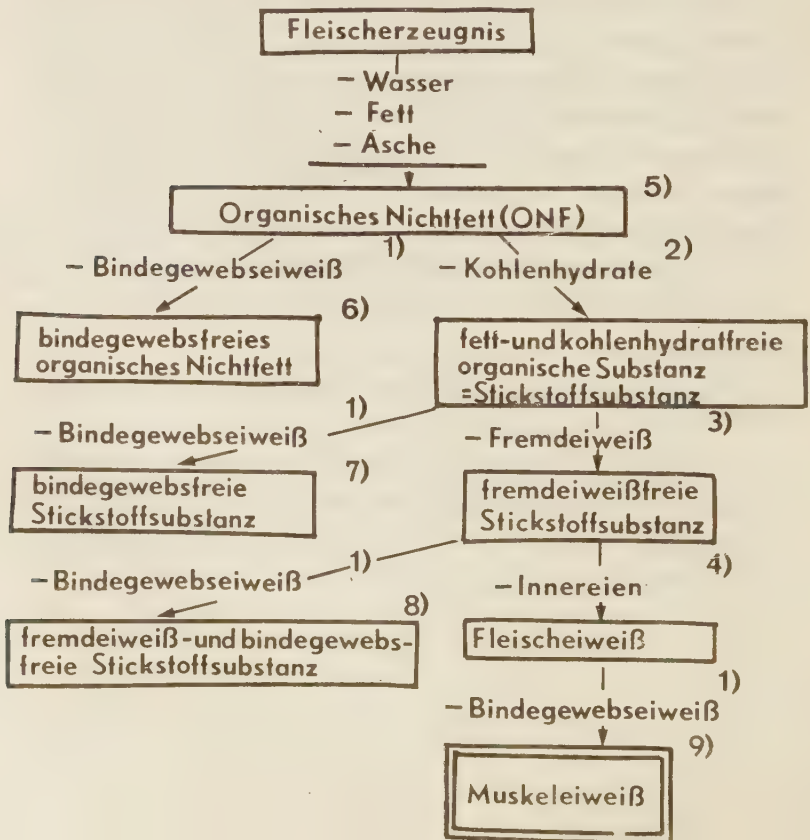
SAFFLE und GALBREATH (70) extrahierten aus schlachtwarmem Fleisch ca. 50 % mehr salzlösliche Proteine als aus Fleisch nach der Totenstarre. Entscheidend für die höhere Extraktionsausbeute soll nach ihrer Meinung der p_H -Wert des Fleisches sein. DAVEY und GILBERT (11) konnten dagegen aus schlachtwarmem Fleisch weniger fibrilläre Proteine extrahieren als aus gelagertem. Annähernd 52 % fibrilläres Eiweiß wurde in 40 min aus schlachtwarmem Fleisch, dagegen 78 % aus gelagertem extrahiert. Als Erklärung für die erhöhte Extraktionsausbeute bei gelagertem Fleisch führen sie eine fortschreitende Auflockerung der Verbindung zwischen fibrillären Proteinen und dem unlöslichen Stroma oder die Disintegrierung des Stromas selbst an.

Die langsame Abnahme der Extrahierbarkeit bei einer über 17 Tage hinausgehenden Lagerung wird als Zeichen einer Denaturierung der fibrillären Proteine gedeutet. In einer späteren Untersuchung (11) bestimmten sie die Natur der extrahierten Proteine. Während Myosin jederzeit vollständig extrahiert werden konnte, war Actin in größerer Menge erst im Laufe der Reifung zu gewinnen. Untersuchungen von LOCKER (51) ergaben, daß die Menge der wasserlöslichen Proteine im Muskel vor der Totenstarre zwischen 44 - 72 mg/g schwankt und zu Beginn des Rigor auf 19 - 25 mg/g absinkt, um dann nach einem leichten Anstieg bei 22 - 28 mg/g zu verbleiben.

IV. Qualitätsbeurteilung von Fleischerzeugnissen

Zu den wertbestimmenden Anteilen eines Fleischerzeugnisses rechnet der Konsument neben einem entsprechenden Genußwert vorallem primär den Fleischanteil. Deshalb stellt sich bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen bevorzugt die Frage, ob ausreichend Muskelfleisch enthalten ist.

Die Frage, ob ausreichend Fleisch enthalten ist, versuchte man in der Lebensmittelüberwachung bisher über die Beurteilung nach den Gehalten an wertlosen und wertarmen Komponenten, nämlich an Wasser, Fett und Bindegewebsprotein zu beantworten. Die Schwächen dieses Verfahrens sind hinreichend bekannt. So entstehen bei der Beurteilung oftmals entstellte Bilder, die Verfälschungen geradezu herausfordern oder zu ungerechtfertigten Beanstandungen führen. Aus diesem Grunde dürfen bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen nicht weiter wertlose oder wertarme Anteile wie Wasser, Fett und Bindegewebsprotein im Vordergrund stehen, sondern der wertbestimmende Anteil, der Muskelfleischanteil muß als entscheidender Parameter behandelt werden. KOTTER, KRAUSSE und PFEIFFER (41) zeichnen in einer graphischen Darstellung den Weg zur Erfassung von Muskeleiweiß (fremdeiweiß-, bindegewebsprotein- und innereiweißfreie Stickstoffsubstanz) wie folgt auf (Abb. 2) :



- 1) Histometrische oder chemische Erfassung. Sofern bei der chemischen Bindegewebs-eiweißbestimmung nur das Kollagen und nicht auch das Elastin erfaßt wird, muß die Differenz als Nichtbindegewebs-eiweiß (gegebenenfalls als Muskeleiweiß) gewertet werden.
- 2) Chemische oder histologische Erfassung
- 3) Serologische oder chemische Erfassung
- 4) Histologische Erfassung
- 5) Ohne Kohlenhydratbestimmung ist das ONF als Stickstoffsubstanz zu werten. Wenn ein parallel bestimmter Rohproteinwert ($N \times 6,25$) ONF ist, so ist diese Unterstellung mit geringerer Unsicherheit belastet. Es ist allerdings zu bedenken, daß Lebensmittel, die nach dem N-Gehalt beurteilt werden, gelegentlich mit Nichteiweißstickstoff (z. B. Harnstoff) "aufgeladen" werden.
- 6) Sofern Kohlenhydrate, Fremdeiweiß und / oder Innereien nicht ausgeschlossen sind, muß das Vorliegen von Muskeleiweiß unterstellt werden. Wenn der Grenzwert für Muskeleiweiß unterschritten ist, erübrigt sich eine weitergehende Differenzierung.
- 7) Sofern Fremdeiweiß und / oder Innereien nicht ausgeschlossen sind, muß das Vorliegen von Muskeleiweiß unterstellt werden. Bei Unterschreitung des Grenzwertes für Muskeleiweiß erübrigt sich eine weitergehende Differenzierung.
- 8) Sofern Innereien nicht ausgeschlossen sind, muß das Vorliegen von Muskeleiweiß unterstellt werden.
- 9) Der Einwand, daß zum Muskeleiweiß auch Stroma zähle, das jedoch als Bindegewebs-eiweiß erfaßt werde, ist unbeachtlich. Der Begriff "Muskeleiweiß" im Sinne dieses Beurteilungsschemas ist eine konventionelle Größe und ein kurzer, klarer und im Hinblick auf § 3 FG auch weniger mißverständlicher Ausdruck als "bindegewebs-eiweißfreies Fleischeiweiß", "fremdeiweiß-, bindegewebs-eiweiß- und innereieneiweiß-freie Stickstoffsubstanz" oder gar der nichtssagende Ausdruck "Differenzeiweiß".

Bei der Analyse von Fleischerzeugnissen ist die Differenz zwischen 100 und der Summe aus den Prozents an Gesamtwasser, Fett und Asche das sogenannte "organische Nichtfett" (ONF). Dieses ONF ist bei kohlenhydratfreien Fleischerzeugnissen mit dem Gesamteiweißgehalt (Stickstoffsubstanz) identisch. Bei kohlenhydrathaltigen Erzeugnissen müßte erst der analytisch zu ermittelnde Kohlenhydratanteil abgezogen werden. Solche Stickstoffsubstanzwerte sind realer als die über die Stickstoffbestimmung ermittelten, weil bei letzteren der Stickstoffgehalt mit einem Faktor, nämlich 6,25, multipliziert und dabei unterstellt wird, daß in der Stickstoffsubstanz der Fleischerzeugnisse stets der 6,25igste Teil Stickstoff ist. In Wirklichkeit ist aber der Stickstoffgehalt z. B. in kollagener Substanz wesentlich höher, im evtl. vorhandenen Milcheiweiß niedriger. Der durch Multiplikation des analytisch erfaßten Stickstoffes mit dem Faktor 6,25 ermittelte Rohproteinwert ist also in Wirklichkeit nur bedingt verwertbar. Der reale Umrechnungsfaktor ließe sich aus $\frac{\text{ONF}}{\text{N}}$ ermitteln. Erfüllt oder überschreitet

der ONF-Anteil die geforderten Werte, so ist nachzuprüfen, ob der ONF-Anteil wirklich aus Fleisch besteht oder ob Fremdeiweiße, z. B. Hühnereiweiß, Sojaprotein usw. vorliegen. Andererseits bleibt außerdem zu klären, ob das Erzeugnis in ausreichendem Maße aus Skelettmuskulatur besteht oder zu viel Eiweiß bindegewebiger Herkunft (Sehnen, Fascien) enthält. Histologische, chemische sowie serologische Untersuchungen tragen zur Klärung bei.

Die zur Erfassung des bindegewebseiweißfreien Fleischeiweißes empfohlenen Verfahren lassen sich in zwei Gruppen einteilen. Die erste Gruppe ermöglicht ohne zusätzliche Analyse eine direkte Aussage, während die zweite Gruppe nur über weitere Untersuchungen eine Aussage ermöglicht (siehe Abb. 2). Keines dieser Verfahren hat bisher befriedigt.

Obwohl die Verdauungsmethode (76, 77) bei nicht erhitztem Material gute Resultate liefert, wird sie bei Rohwürsten, die Zusätze von hitze- oder säureaufbereitetem kollagenen Bindegewebe enthalten, ungenau. Bei der

Tryptophanmethode (7) spielt die Zustandsform des Untersuchungsmaterials zwar keine Rolle, doch ist zu beachten, daß der Tryptophangehalt des Muskelfleischs sehr niedrig ist (1,1 - 1,4 %). Bei Bestimmungen des Muskelfleischanteiles mit der Tryptophanmethode ist deshalb zusätzlich eine Stickstoff- und eine Hydroxyprolinbestimmung notwendig.

Hydroxyprolin ist die für Kollagen spezifische Aminosäure. Ihr Anteil beträgt im kollagenen Bindegewebe 13 %. Die Bestimmung des Hydroxyprolins erfolgt kolorimetrisch nach Hydrolyse des Eiweißes mit Säure, Oxydation des freigesetzten Hydroxyprolins und Umsetzung mit Dimethylaminobenzaldehyd zu Farbstoff (56). Trotzdem ist nach KOTTER (39) die Hydroxyprolinbestimmung unter den chemischen Methoden zur Bindegewebe-eiweißbestimmung die bisher beachtlichste. Dabei darf jedoch nicht übersehen werden, daß sie das elastische Bindegewebe vernachlässigt, weshalb die Methode durch Verfälschungen mit elastischem Gewebe unterlaufen wird und daß auch das über die Hydroxyprolinmethode erfaßte Bindegewebe-eiweiß auf das Gesamteiweiß bezogen wird. Der Vorhalt, daß sich bei der Beurteilung nach dem "Muskeleiweißgehalt" falsche Bilder ergeben könnten, weil hierbei jegliches Nichtbindegewebe-eiweiß als Muskeleiweiß gewertet wird, gilt deshalb genauso für das Kriterium Bindegewebe-eiweiß, wenn nur Rohprotein und Bindegewebe-eiweiß bestimmt werden. Objektiv ist die Beurteilung nur, wenn als Bindegewebe-eiweiß neben Kollagen auch Elastin erfaßt wird und das "Nichtbindegewebe-eiweiß", das in der Praxis als Muskeleiweiß gewertet wird nicht auch aus Hühnereiweiß, Blutplasma, Milcheiweiß, Sojaeiweiß oder dergleichen besteht.

Für den Nachweis von Fremdeiweiß in Fleischerzeugnissen haben sich serologische Reaktionen bewährt. Es ist mit Hilfe dieser biologischen Untersuchungsmethodik möglich, Eiweiße eines Eiweißgemisches auf Grund ihrer serologischen Affinität zu den spezifischen Antikörpern eines Antiserums zu indentifizieren.

Die direkte Wechselwirkung zwischen Antigen und den korrespondierenden Antikörpern führt zur Präzipitation, wenn sich korpuskuläre Elemente mit

Antigeneigenschaften (z.B. Erythrocyten) unter der Wirkung korrespondierender Antikörper zusammenballen, spricht man von Agglutination. Präzipitations- und Agglutinationsreaktionen werden für den Nachweis von Fremdeiweißen in Fleischerzeugnissen mit unterschiedlichem Erfolg angewendet.

Die Präzipitation kann zur qualitativen und quantitativen Bestimmung herangezogen werden (12, 13, 14, 25). Im Gegensatz zur Präzipitation, deren Empfindlichkeit durch die noch sichtbare Menge an Antigen-Antikörper-Komplex limitiert ist, liegt die Empfindlichkeitsgrenze der Agglutination wesentlich höher. Die indirekte Hämagglutination ist deshalb besonders für den quantitativen Nachweis von Fremdeiweiß in Fleischerzeugnissen geeignet (6).

Unter bestimmten Bedingungen bietet sich für die Bestimmung des absoluten Muskeleiweißanteils auch das histometrische Verfahren an.

KOTTER (36) hat mit dem Integrationsverfahren unter Verwendung des Integrationstisches nach LEITZ einen Weg für die Ermittlung des relativen Bindegewebsseiwweißanteils angezeigt. Mit Hilfe der modifizierten HEIDENHEIN'SCHEN Azanfärbung (Anilinblau, Goldorange und Eisessig), mit der sich das Muskeleiweiß gelb und das Bindegewebsseiwweiß blau anfärben, können die Gewebe differenziert werden.

Dem sehr zeitaufwendigen Integrationsverfahren hat PRÄNDL (65) das Point-Counter-Verfahren nach GLAGOLEFF gegenübergestellt. Dabei wird das histologische Präparat auf einer bestimmten Strecke verschoben und die jeweils unter dem Fadenkreuz liegende Stelle als Treffer erfaßt.

SCHÖNBERG (78) hat frühzeitig auf die Entstehung von Mischfarben zwischen Blau und Gelb mit meist grünlichem Farbton hingewiesen. Bei der starken Zerkleinerung des Untersuchungsmaterials kommt es naturgemäß zu einer so starken Durchmischung der kollagenen Substanzen und erst recht der daraus entstehenden Gelatine- und Glutinmassen mit dem Muskeleiweiß, daß vielfach das Muskeleiweiß überdeckt wird und nicht mehr klar ermittelt werden kann. Hierbei entstehen Mischfarben, die von

Hellgrün bis zu einem intensiven Blau reichen. Solche Mischfarben können nicht berücksichtigt werden, wenn es darum geht, die Punktzahlen für Bindegewebeisweiß einerseits und reines Muskeleiweiß andererseits festzustellen.

PFEIFFER (63) weist darauf hin, daß in der Routine der Lebensmittelüberwachung bestimmte Eiweißvolumina niemals absolute Werte darstellen, sondern nur eine Aussage über den statistisch ermittelten Bereich sein können innerhalb dessen das echte Ergebnis liegt.

Auf der bisherigen Ermittlung der Relation zwischen Bindegewebs- und Muskeleiweiß mittels der Histometrie aufbauend, kann jedoch auf der Basis des kohlenhydrat- und fremdeiweißfreien ONF-Anteils diese histometrische Methode zur Bestimmung des absoluten Muskeleiweißgehaltes herangezogen werden. Die Volumenverhältnisse müssen dann jedoch (41) in geeigneter Weise (80) in das Gesamteiweiß projiziert werden, wobei zu respektieren ist, daß Gewichts- und Volumenverhältnisse nicht direkt vergleichbar sind (41).

In der Literatur finden sich auch Angaben über die gravimetrische Erfassung des Muskeleiweißanteils. Die von KOTTER, PFEIFFER und SALAMON (40, 72) beschriebene Methode beruht darauf, den bei der Erhitzung von Fleisch stets auftretenden Kochverlust zu einem Maximum zu treiben und das Bindegewebe völlig zu Verleimung und Auflösung zu bringen, um den unabhängigen Wert für den Muskelfleischanteil zu erhalten, in dem der ausgekochte Rückstand getrocknet und gewogen wird. Der erhaltene Rückstand sollte dem Muskeleiweißanteil entsprechen.

Von KOTTER, PFEIFFER und SALAMON (40) wurde das Auskochen mit Wasser vorgeschlagen. In diesem Falle wird das Herauslösen des Kollagens durch mehrstündiges Kochen der Probe in Wasser angestrebt. Der hierbei nicht in Lösung gehende Anteil wird abfiltriert, getrocknet und gewogen. Um das in ihm noch enthaltene Elastin zu erfassen, kann eine getrennte Einwaage

in verdünnter Natronlauge gekocht werden, wobei nur Elastin ungelöst zurück bleibt.

LINKE und WOLTERSDORF (50) belegten an Untersuchungen, die sie an Gulasch durchführten, daß bei o.a. Methode der Zeitaufwand beträchtlich sei und der Kollagengehalt nicht immer restlos in Lösung gehe.

Auf Grund der erhobenen Bedenken gegen das Wasser-Verfahren wurde von KRAUSSE, PFEIFFER und BAAS (45) das Verfahren dahingehend modifiziert, daß zur Auskochung nicht Wasser, sondern eine 0,02 molare wässrige Weinsäurelösung benutzt wurde, wobei sich die Kochzeit auf die Hälfte verringern ließ, da infolge der erhöhten H-Ionenkonzentration der Abbau des Kollagens beschleunigt wurde.

Die Problematik der o.a. Auskochverfahren liegt nach HELLMANN (26) darin, daß die für das Wasser-Verfahren vorgeschriebene Entfettung mit kochendem Wasser unvollständig sein könne, während die Entfettung mit Aceton viel größer sei. Weiterhin sei die erhebliche Differenz zwischen der kollagenfreien Muskelfleischtrockenmasse und der bindegewebsfreien Muskelfleischtrockenmasse auffällig.

LINKE und WOLTERSDORF (50) kamen bei Anwendung des Weinsäureverfahrens auf die Gulaschuntersuchung zu dem Schluß, daß zwar der Kollagengehalt bis auf unbedeutende Reste entfernt werden konnte, jedoch infolge der erheblichen Verluste an Muskeleiweiß eine differenzierte Qualitätsbeurteilung nicht möglich war.

Wegen der bei den bisher besprochenen Auskochverfahren aufgetretenen Schwierigkeiten wurde von LANGNER (48) eine Entfettung der Probe mit einem Dichlormethan/Aceton-Gemisch und ein Auskochen mit 0,1 molarer di-Natriumhydrogenphosphatlösung (Phosphatpuffer) vorgeschlagen. Dadurch konnte die Kochzeit auf eine Viertelstunde reduziert werden.

KÖBERLEIN und BLASENBREI (34), die vergleichende Untersuchungen zum Auskochverfahren durchführten, stellten zusammenfassend fest, daß die Werte des Muskelfleischanteiles nach dem Auskochverfahren im Durchschnitt 6 % absolut niedriger liegen als die über die Hydroxyprolinmethode ermittelten. Nach KÖBERLEIN und BLASENBREI (34) soll bei der Be-

stimmung des Muskeleiweißanteils nach der Hydroxyprolinmethode Fremdeiweiß keinen Einfluß ausüben, während beim Auskochverfahren eine nicht voraussehbar hohe Teilmenge Fremdeiweiß als Muskeleiweiß miterfaßt wird. Zudem ist die Hydroxyprolinmethode in Hinsicht auf die Arbeitszeit und auf den Materialaufwand für chemische Laboratorien mehr geeignet als die Auskochmethode.

Auf der Suche nach einer Methode zum Nachweis von Fremdeiweißen gelang es HOFMANN und PERRY (28) mittels der SDS-Polyacrylamid-Elektrophorese auf Flachgelen Sojaprotein, Milcheiweiß, Hühnereiweiß und auch Muskeleiweiß auf Grund ihres jeweils typischen Bandenmusters zu identifizieren. Bei Gemischen verschiedener Proteine überlagern sich jedoch diese Bandenmuster. Bei starker Erhitzung von Fleisch und Sojaeiweiß (über 100 ° C) werden die Protein-Farbstoff-Banden so abgeschwächt, daß das Auffinden von Fremdeiweiß in Fleischwaren erschwert wurde oder in manchen Fällen ganz unmöglich war. Bei längerer Hoherhitzung des Fleisches (30 min auf 120 ° C) verschwand die Myosinbande völlig und die Actinbande wurde abgeschwächt. Die Gelelektrophorese der Proteine von Fleisch, das gelagert, gefroren, gefrierengelagert oder gefriergetrocknet war, ergab keine bedeutenden Unterschiede in den Bandenmustern gegenüber Frischfleisch. Bei Untersuchungen, Kollagen mit Hilfe der Fliehkraft vom Muskeleiweiß zu trennen, wurde von KRAUS und KÖNEKAMP (44) eine weitere Methode zur Analyse von Fleischmengen und Wurstwaren entwickelt. Sie gingen von der Tatsache aus, daß das spezifische Gewicht der verschiedenen Gewebe unterschiedlich ist, und sie versuchten, durch Zentrifugieren die einzelnen Gewebeanteile zu trennen. Dieses Verfahren wurde von JÖRN (32) auf seine Eignung bei der Brühwurstuntersuchung geprüft und von STREICHAN (85) bei Qualitätsuntersuchungen von Brühwürsten angewendet. Nach STREICHAN ermöglicht das Verfahren eine Trennung und Anreicherung einzelner Gewebe in verschiedenen Schichten. Die Anreicherung kann jedoch nur histologisch ermittelt werden.

Durch grobsinnliche Prüfung der zentrifugierten Proben ist kein Aufschluß über den Anteil an kollagenem Gewebe in dem zu untersuchenden Material möglich, denn die äußerlich erkennbaren Schichten korrelieren nicht mit dem Kollagengehalt. Sie unterliegen während des Untersuchungsverfahrens besonderen Temperatureinflüssen (85).

Im Leitsatzentwurf für Fleisch und Fleischerzeugnisse des Deutschen Lebensmittelbuches (37) wird Gesamteiweiß als die Summe der Stickstoffsubstanzen definiert. Sie ergibt sich am sichersten aus dem Vergleich des Gehaltes an Rohprotein (Stickstoffgehalt $\times 6,25$) mit dem Gehalt an organischem Nichtfett, und sofern sich die Gehalte an Rohprotein und organischem Nichtfett decken, ist dieser Wert repräsentativ. Wenn sich die Werte nicht decken, gilt der niedrigere als Gesamteiweiß. Entsprechendes gilt auch dann, wenn der Wert von organischem Nichtfett minus etwa vorhandener Kohlenhydrate niedriger liegt als der Rohproteingehalt. Bei der histometrischen Auswertung gelten die in den histologischen Schnitten fettfrei dargestellten Gewebe und Substanzen als "Gesamteiweiß".

Als "Fleischeiweiß" gilt die von geschlachteten warmblütigen Tieren stammende Stickstoffsubstanz. Sie ergibt sich aus der Differenz zwischen Gesamteiweiß und der Summe aus Fremdeiweiß und fremder Nichteiweißstickstoffsubstanz. Solange Fremdeiweiß und fremde Nichteiweißstickstoffsubstanz nicht erschöpfend ausgeschlossen sind, gilt der undifferenzierte Teil als "Fleischeiweiß".

Als "bindegewebeseiweißfreies Fleischeiweiß" gilt die Differenz zwischen Gesamteiweiß und der Summe aus Fremdeiweiß, fremder Nichteiweißstickstoffsubstanz und Bindegewebeseiweiß. Solange Fremdeiweiß, fremde Nichteiweißstickstoffsubstanz und Bindegewebeseiweiß nicht erschöpfend ausgeschlossen sind und der undifferenzierte Anteil über dem geforderten Minimum an bindegewebeseiweißfreiem Fleischeiweiß liegt, wird das Vorliegen von ausreichend bindegewebeseiweißfreiem Fleischeiweiß unterstellt. Eine völlige Differenzierung erübrigt sich dann a priori, wenn ein gefordertes Minimum an bindegewebeseiweißfreiem Fleischeiweiß schon vom undifferenzierten Anteil nicht erreicht wird.

Als "Bindegewebs-eiweiß" gilt die Summe der aus Bindegewebe entstammenden Eiweiße (vor allem Kollagen und Elastin). Wenn nur Kollagen erfaßt wird, gilt dieses als "Bindegewebs-eiweiß". Bei der histometrischen Auswertung gelten die in den Schnitten auf Grund spezifischer Strukturen oder Farbaaffinitäten erkennbaren Bindegewebssubstanzen als "Bindegewebs-eiweiß".

"Fremdeiweiß" ist Eiweiß, das nicht von Schlachttieren stammt (z. B. Eiklar, Milcheiweiß, Sojaeiweiß, Weizeneiweiß).

"Fremde Nichteiweißstickstoffsubstanz" stammt nicht von verwendetem Fleisch. Sie wird bevorzugt durch Eiweißhydrolyse gewonnen und hat teilweise höhere Stickstoffgehalte als Eiweiß.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Voruntersuchungen

Aufgrund von Beobachtungen beim Färben von histologischen Präparaten nach GIEMSA, wobei eine Differenzierung zwischen Fremdeiweiß, das sich violett anfärbte, Muskeleiweiß, das sich blau und Bindegewebe, das sich rot anfärbte, möglich war, wurde das Untersuchungsmaterial direkt im Verhältnis 1 : 80 mit verdünnter Giemsalösung gefärbt und die Farblösung photometrisch ausgewertet.

1. Material und Methodik

Für die Untersuchungen wurden Schabefleisch, sehnearmes Fleisch, Fleisch wie gewachsen und Brät lyophilisiert und entfettet. Gebrühte Schwarten und Rinderfußhäute wurden nur lyophilisiert. Blutplasma und die Fremdeiweißpräparate aufgeschlossenes Milcheiweiß, Weizenkleber, frisches Hühnereiklar sowie verschiedene Sojaproteinpräparate (Sojamehl, "Promine D", "Promine F", "Sojamin", griechisches Sojamehl und Sojaprotein sowie "Isolar") wurden in verschiedenen Konzentrationen untersucht. Daneben wurden auch andere Wurstzusatzmittel (Nitritpökelsalz, "Ajimate", "Maggi", "Jungbull" sowie Harnstoff und Hefeextrakt) photometriert. Die für die Untersuchung verwendete GIEMSA-Lösung bestand aus 3,0 g Azur II-Eosin, gelöst in 250 g Glycerin, und aus 0,8 g Azur II, gelöst in 250 ml Methanol.

Vom Untersuchungsmaterial wurden jeweils 0,025; 0,125; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,75; 2,0; 2,25 und 2,5 g mit 40 ml GIEMSA/physiol. NaCl-Lösung im Verhältnis 1:1 versetzt, 16 Stunden bei Zimmertemperatur inkubiert und anschließend filtriert (Schleicher und Schüll Nr. 602¹/₂).

Die Farbveränderungen im Filtrat wurden gegen die verdünnte Farblösung (1:200) mit physiol. NaCl-Lösung (1:1) versetzt und mit dem BECKMANN-PHOTOMETER (Typ: Beckmann DB-G Grating Spektrophotometer) gemessen.

Außer den beiden "Farbstoff"-Piks bei 660 und 515 nm wurde ein Pik bei 408 nm gefunden.

2. Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen 1 - 4 enthalten. Sie geben die Mittelwerte ($\bar{x} = 20$) der bei einer Wellenlänge von 408 nm gefundenen Transmissionen an.

Tab. 1: Transmission der Filtrate des lyophilisierten und entfetteten Untersuchungsmaterials

Material	Konzentration in g/40 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Schabefleisch	0,025	98,0
	0,125	88,8
	0,25	78,7
	0,5	59,2
	0,75	47,3
	1,0	34,7
	1,25	27,8
	1,5	21,2
	1,75	15,0
	2,0	13,0
	2,25	9,9
	2,5	8,2
sehnenarmes Fleisch	2,5	9,5
Fleisch wie gewachsen	2,5	7,9
Brät	2,5	30,2

Tab. 2: Transmissionen der Filtrate der Fremdeiweiße und des
Trockenblutplasmas

Material	Konzentration in g/40 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
aufgeschlossenes Milcheiweiß	0,05 0,25 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	95,7 82,4 68,3 50,6 38,0 27,6 22,5
Trockenblutplasma	0,05 0,25 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	97,5 93,1 87,2 72,0 61,0 55,6 51,2
frisches Hühner- eiklar	0,05 0,25 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	100,0 99,9 98,9 98,8 98,5 97,7 96,0
Weizenkleber	0,05 0,25 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	99,0 97,9 90,1 90,4 85,8 85,2 87,4
Sojapräparate	0,05 0,25 1,5 2,5	97,0 81,0 54,0 46,8

Tab. 3 : Transmissionen der Filtrate der Wurstzusatzmittel

Material	Konzentration in g/40 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
A	0,25	98,5
	1,5	97,6
	2,5	100,0
B	0,25	98,1
	1,5	97,15
	2,5	98,8
C	0,25	88,7
	1,5	73,7
	2,5	60,25
D	0,25	84,2
	1,5	67,25
	2,5	54,0
E	0,25	89,7
	1,5	55,3
	2,5	37,8
F	0,25	83,0
	1,5	39,0
	2,5	22,0

Zeichenerklärung :

A = Harnstoff

B = Nitritpökelsalz

C = Maggi

D = Ajimate

E = Hefeextrakt

F = Jungbull

Tab. 4 : Transmissionen der Filtrate aus den gebrühten und lyophilisierten Schwarten und Rinderfußhäuten

Konzentration in g/40 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
0,25	97,0
1,5	91,0
2,5	95,0

In Abb. 4 und 5 sind die Transmissionen der Filtrate von Schabefleisch im Vergleich zu den Transmissionen der Fremdeiweiße, kollagenem Gewebe und Wurstzusatzmitteln graphisch dargestellt.

Da bei Sehnen und Schwarten sowie allen Fremdeiweißen, bei verschiedenen Kutterhilfsmitteln, Gewürzmischungen und Nichteiweißstickstoffsubstanzen (u.a. Harnstoff) dieser Pik nicht zu beobachten war, sondern stets nur bei Schabefleisch, Fleisch wie gewachsen, Brät und den nicht erhitzten Kontrollchargen, wurde dieser Pik den "wasserlöslichen fleischeigenen Stickstoffsubstanzen" zugeordnet. Das Filtrat der auf 70⁰ C erhitzten Kontrollcharge wurde gelchromatographisch aufgetrennt und zeigt folgendes Bild (Abb. 3) :

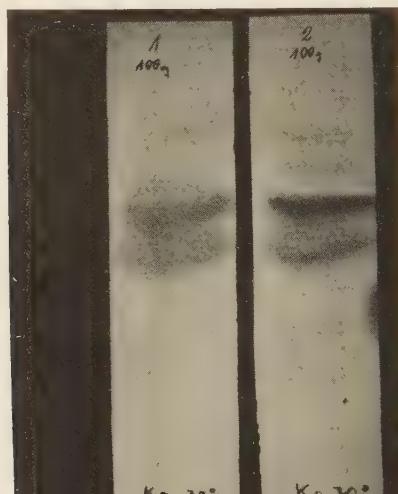
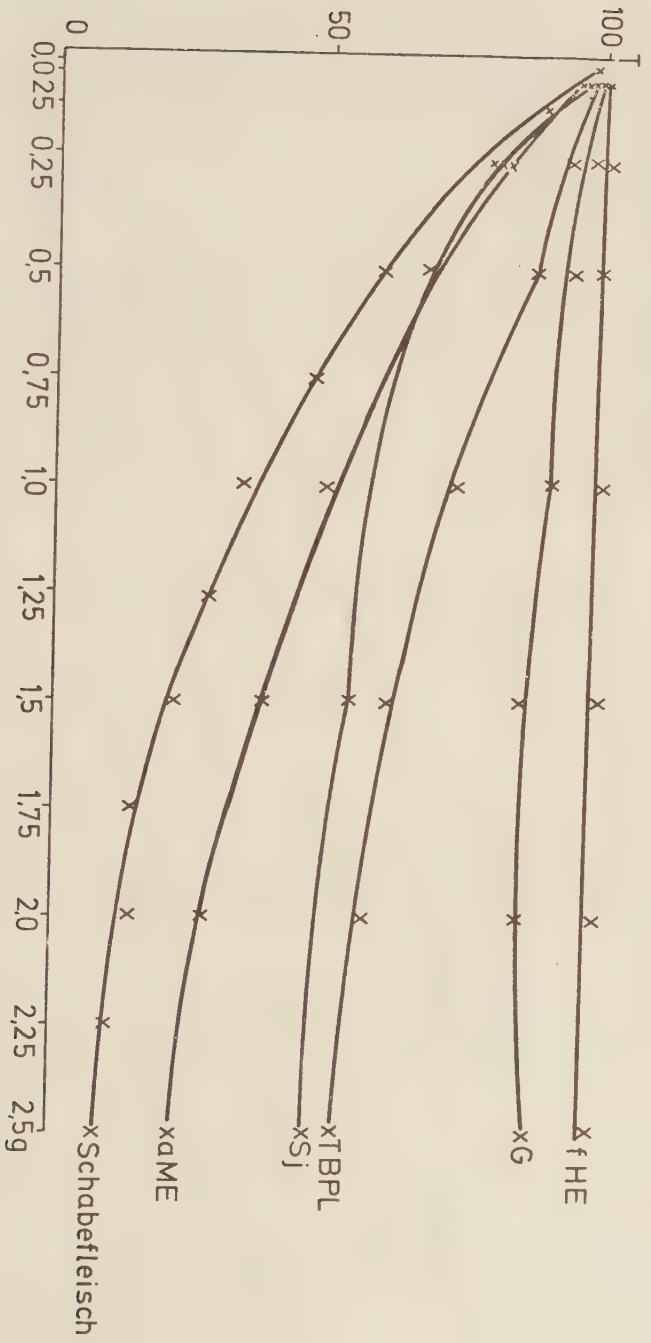


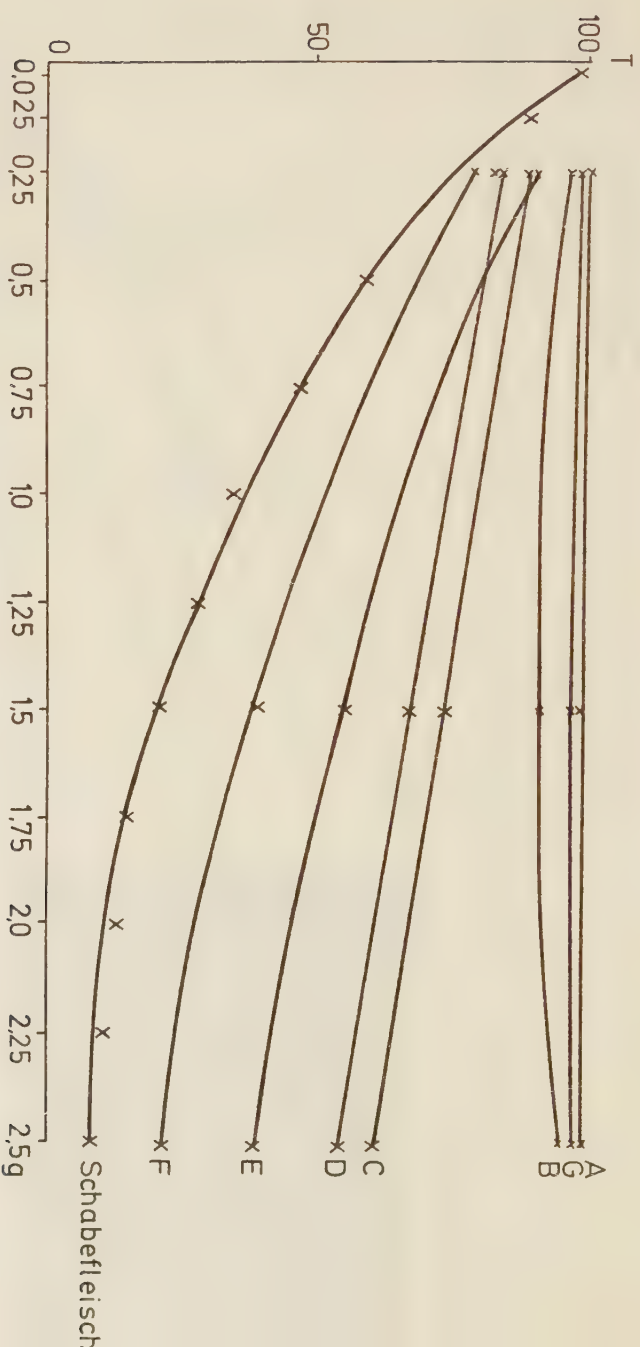
Abb. : 4 : Transmissionen des Filtrates von 0, 0,25 - 2,5 g/40 ml physiol. NaCl-Lösung aufgearbeitetem Schabefleisch im Vergleich zu den Transmissionen bei verschiedenen Fremdeiweißen und bei Trockenblutplasma



Zeichenerklärung :

- HE = frisches Hühnerweiß
- G = Gluten (Weizenkleber)
- TBPL = Trockenblutplasma
- Sj = Sojaprotein
- AME = aufgeschlossenes Milcheiweiß

Abb. 5 : Transmissionen des Filtrates von 0,025 - 2,5 g/40 ml physiol. NaCl-Lösung aufgearbeitetem Schabefleisch im Vergleich zu den Transmissionen bei kollagenem Gewebe sowie verschiedenen Zusätzen



Zeichenerklärung :

- A = Harnstoff
- B = Natriphosphat
- C = Maggi
- D = Ajimate
- E = Hefeextrakt
- F = Jungfisch
- G = Schinken und Rinderfleisch

Die Pikhöhe bei 408 nm verhält sich proportional zur Menge des bei p_H 7,2 löslichen Anteils der fleischeigenen Stickstoffverbindungen.

II. Hauptversuch

In dieser Untersuchungsreihe wurde das Untersuchungsmaterial nur in physiol. NaCl-Lösung, die auf p_H 7,2 eingestellt war, 15 min bei 38° C inkubiert und das Filtrat gegen Luft photometrisch gemessen. Bei 408 nm zeigte sich ebenfalls ein Pik.

1. Material und Methodik

a. Untersuchungen an Fleisch

Für die Untersuchungen wurde Schabefleisch, Fleisch wie gewachsen, sehnearmes Fleisch, Brät und Tartar lyophilisiert und entfettet. In einer weiteren Untersuchungsreihe wurde frisches Schabefleisch, Fleisch wie gewachsen und Lende untersucht.

Von o.a. Untersuchungsmaterial wurden jeweils 0,025 ; 0,125 ; 0,25 ; 0,375 ; 0,5 ; 0,625 ; 1,0 und 1,25 g mit 20 ml physiol. NaCl-Lösung versetzt, mit dem Ultra-Turrax 1 min homogenisiert und 15 min bei 38° C inkubiert. Die Lösung wurde filtriert und das Filtrat gegen Luft photometrisch gemessen.

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tab. 5 - 7 aufgeführt und geben die Mittelwerte ($\bar{x} = 20$) der bei einer Wellenlänge von 408 nm gefundenen Transmissionen an.

Tab. 5 : Transmissionen der Filtrate von lyophilisiertem und entfettetem Untersuchungsmaterial

Material	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Schabefleisch	0,025	100,0
	0,125	93,0
	0,250	83,0
	0,375	75,0
	0,500	69,5
	0,625	61,0
	0,750	54,0
	1,000	43,0
	1,250	35,0
Schabefleisch (schlachtwarm)	0,125	68,9
Lende	0,125	36,1
Fleisch wie gewachsen (schlachtwarm)	0,125	44,9
Fleisch wie gewachsen	0,125	81,0
	0,250	39,2
Fleisch sehnenarm	0,250	71,3
Tartar ^{x)}	0,125	41,3
Rindfleisch ^{x)}	0,125	62,1
Brät	0,250	43,7
Brät	0,125	71,4

x) Das Material wurde erst 2 Jahre nach der Lyophilisation untersucht.

Um den Einfluß des Fettes auf das Meßergebnis im Vergleich zu lyophilisiertem und entfettetem Material zu prüfen, wurden folgende Proben nur lyophilisiert.

Tab. 6 : Transmissionen der Filtrate des lyophilisierten, nicht entfetteten Untersuchungsmaterials

Material	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Schabefleisch (schlachtwarm)	0,125	40,7
Lende, geschabt	0,125	21,0
Fleisch wie gewachsen (schlachtwarm)	0,125	40,4

Durch weitere Prüfungen sollte festgestellt werden, welchen Einfluß die Lyophilisation des Materials auf die Transmissionswerte hat.

Tab. 7 : Transmissionen der Filtrate des nicht lyophilisierten und nicht entfetteten Untersuchungsmaterials

Material	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Lende, geschabt	0,125	47,9

In einem weiteren Versuchsansatz wurde geprüft, inwieweit durch eine längere Inkubationszeit (1 Stunde, 2 Stunden sowie 12 Stunden) das Ergebnis zu verbessern ist. Wie die in Tab. 8 zusammengefaßten Untersuchungsergebnisse zeigen, konnte keine Verbesserung der Ergebnisse erreicht werden, so daß für die weiteren Untersuchungen die Inkubation von 15 min beibehalten wurde.

Tab. 8: Transmissionen der Filtrate des lyophilisierten und entfetteten Schabefleisches

Material	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Schabefleisch 1 Std. extrahiert	0,250	34,6
Schabefleisch 2 Stdn extrahiert	0,250	35,3
Schabefleisch 12 Stdn extrahiert	0,250	35,0

b. Untersuchungen von Modellchargen

Den Untersuchungen lagen Modellchargen mit folgender Grundrezeptur zugrunde :

40 % Rindfleisch	15 g Nitritpökelsalz/kg Brät
35 % Speck	4 g Gewürz/kg Brät
25 % Eis	1 g Na-Ascorbat/kg Brät

Charge 1 war zugleich Kontrollcharge.

Die chemischen Analysenwerte in % sind jeweils in Klammern vermerkt.

Charge 1 : (W 54,0; F 33,3; A 2,0; ONF 10,7; RP 10,8; BE 1,4)

Den weiteren Chargen wurden im einzelnen pro kg Brät folgende Zusätze beigegeben :

Charge 2 : 15 g TBPL (W 52,8; F 33,5; A 2,7; ONF 11,0; RP 11,2;
BE 1,3)

Charge 3 : 22,5 g fHE (W 53,0; F 34,1; A 2,0; ONF 10,9; RP 10,8;
BE 1,5)

Charge 4 : 15 g G (W 52,5; F 33,9; A 2,5; ONF 11,1; RP 11,4;
BE 1,4)

Charge 5 : 3 g Harn- (W 73,7; F 15,3; A 1,7; ONF 9,3; RP 10,1;
stoff BE 1,0)

Charge 6 : 15 g aME (W 52,2; F 33,4; A 2,0; ONF 12,4; RP 12,0;
BE 1,4)

Charge 7 : 15 g Sj (W 52,2; F 33,7; A 2,5; ONF 11,6; RP 12,1;
BE 1,4)

Charge 8 : 5 g Aji- (W 53,8; F 33,3; A 3,0; ONF 9,9; RP 10,4;
mate BE 1,4)

Charge 9 : 10 g Maggi (W 53,5; F 33,7; A 2,4; ONF 10,4; RP 10,9;
BE 1,4)

Zeichenerklärung :

W = Wasser

F = Fett

A = Asche

ONF = organisches
Nichtfett

RP = Gesamtstick-
stoffverbindungen

BE = Bindegewebeiseiweiß

TBPL = Trockenblutplasma

fHE = frisches Hühner-
eiweiß

G = Gluten (Weizen-
kleber)

aME = aufgeschlossenes
Milcheiweiß

Sj = Sojaprotein

Die Chargen wurden in Cellophanfaserdärme gefüllt. Ein Teil wurde nicht erhitzt (a), der andere Teil 30 min bei einer Kerntemperatur von 70 ° C gehalten (b).

Das Untersuchungsmaterial wurde lyophilisiert und entfettet. Das entfettete Lyophilisat wurde mittels Mikromühle fein gemahlen und mit 20 ml physiol. NaCl-Lösung p_H 7,2 mit dem Ultra-Turrax 1 min homogenisiert. Anschließend wurde die Probe 15 min bei 38 ° C inkubiert und filtriert. Das Filtrat wurde bei 408 nm gegen Luft gemessen.

Von den Chargen a wurden die Filtrate aus 0,125 g, von den Chargen b jeweils aus 0,125; 0,250; 0,500; 1,00 und 1,25 g/20 ml physiol. NaCl-Lösung gemessen.

Von Charge 1 b wurde eine Eichkurve der Filtrate aus 0,125 g bis 1,25 g Material/20 ml physiol. NaCl-Lösung angefertigt (Abb. 6).

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tab. 9 - 10 zusammengefaßt.

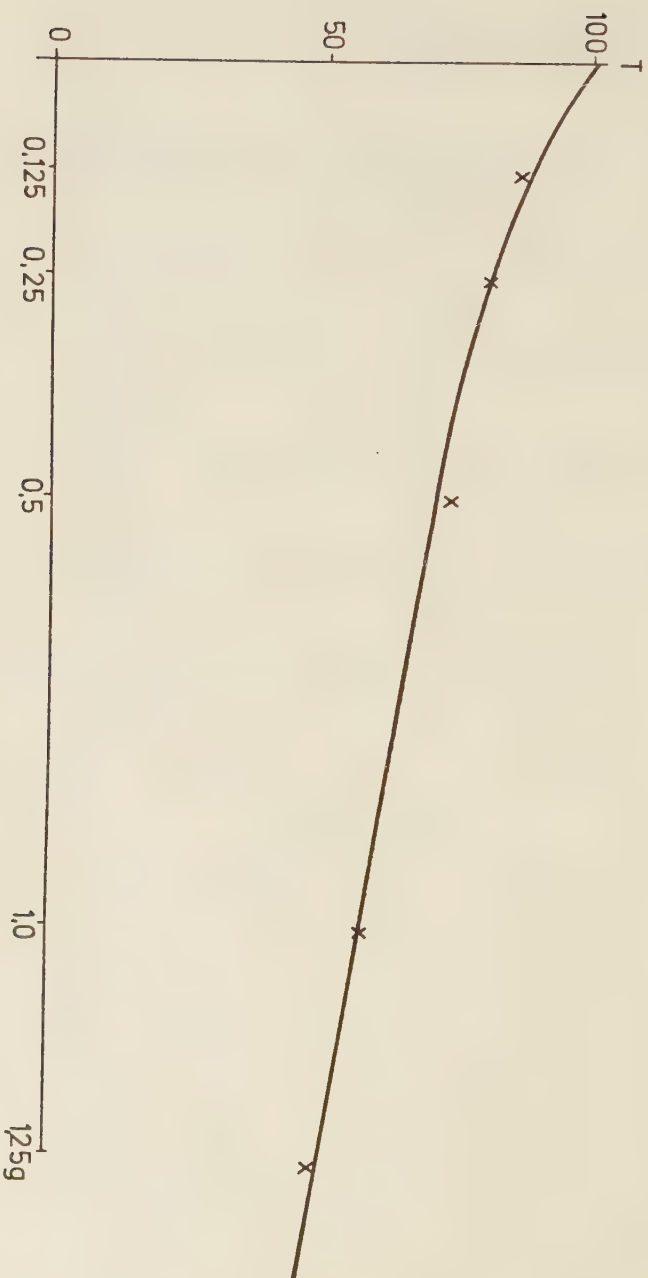
Tab. 9: Transmissionen der Filtrate der lyophilisierten und entfetteten Modellchargen a

Charge	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
1 a	0,125	20,0
2 a	0,125	20,6
3 a	0,125	30,0
4 a	0,125	40,1
5 a	0,125	30,75
6 a	0,125	26,0
7 a	0,125	36,0
8 a	0,125	46,0
9 a	0,125	56,5

Tab. 10 : Transmissionen der Filtrate aus den lyophilisierten und entfetteten Modellchargen b

Charge	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
1 b	0,125	85,2
1 b	0,250	81,2
1 b	0,500	73,3
1 b	1,00	57,6
1 b	1,25	48,4
2 b	1,00	64,4
3 b	1,00	58,4
4 b	1,00	52,28
5 b	1,00	55,6
6 b	1,00	30,0
7 b	1,00	33,6
8 b	1,00	57,7
9 b	1,00	49,5

Abb. 6 : Eichkurve aus den Filtraten der Probe 1 b von 0,125 bis 1,25 g Probenmaterial / 20 ml physiol. NaCl-Lösung



Um die Zufälligkeit der bisherigen Untersuchungsergebnisse ausschalten zu können, wurden für eine weitere Untersuchungsreihe Modellchargen nach der auf S. 34 angegebenen Grundrezeptur hergestellt.

Den Chargen wurden im einzelnen pro kg Brät folgende Zusätze beigegeben. Die chemischen Analysenwerte in % sind jeweils in Klammern vermerkt. Charge 1/2 war zugleich Kontrollcharge.

Charge 1/2 a : (W 54,4 ; F 33,7 ; A 2,1 ; ONF 9,8 ;
RP 10,8 ; BE 1,2)

Charge 2/2 a : 15 g TBPL (W 57,0 ; F 30,48 ; A 1,29 ; ONF 10,6 ;
RP 10,6 ; BE 1,7)

Charge 3/2 a : 22,5 g (W 58,04 ; F 29,8 ; A 2,04 ; ONF 10,12 ;
fHE RP 10,05 ; BE 1,6)

Charge 4/2 a : 15 g G (W 57,0 ; F 29,7 ; A 2,0 ; ONF 11,28 ;
RP 11,45 ; BE 1,5)

Charge 5/2 a : 15 g aME (W 56,3 ; F 30,9 ; A 2,18 ; ONF 10,62 ;
RP 10,6 ; BE 1,7)

Charge 6/2 a : 15 g Sj (W 56,32 ; F 30,77 ; A 2,05 ; ONF 10,68 ;
RP 10,86 ; BE 1,64)

Charge 1/2 b : (W 58,52 ; F 28,7 ; A 1,95 ; ONF 10,83 ;
RP 9,75 ; BE 1,6)

Charge 2/2 b : 15 g TBPL (W 58,4 ; F 28,0 ; A 2,24 ; ONF 11,36 ;
RP 10,95 ; BE 1,4)

Charge 3/2 b : 22,5 g (W 58,4 ; F 28,4 ; A 1,92 ; ONF 11,23 ;
fHE RP 9,8 ; BE 1,86)

Charge 4/2 b : 15 g G (W 57,73 ; F 28,7 ; A 2,06 ; ONF 11,51 ;
RP 10,75 ; BE 1,6)

Charge 5/2 b : 15 g aME (W 57,3 ; F 28,6 ; A 2,11 ; ONF 11,99 ;
RP 10,85 ; BE 1,7)

Charge 6/2 b : 15 g Sj (W 57,2 ; F 29,8 ; A 2,06 ; ONF 10,94 ;
RP 10,65 ; BE 1,6)

Die Chargen wurden in Cellophandärme gefüllt. Ein Teil wurde nicht erhitzt (a), der andere Teil 30 min bei einer Kerntemperatur von 70°C gehalten (b).

Für die Untersuchung wurde das Material lyophilisiert und entfettet. Das entfettete Lyophilisat wurde mittels Mikromühle fein gemahlen und mit 20 ml physiol. NaCl-Lösung ($p_{\text{H}} 7,2$) im Ultra-Turrax homogenisiert, 15 min bei 38°C inkubiert und anschließend filtriert. Das Filtrat wurde bei 408 nm gegen Luft gemessen.

Von den Chargen a wurden die Filtrate aus 0,125 g/20 ml physiol. NaCl-Lösung, von den Proben b jeweils die Filtrate aus 0,250; 0,500; 0,750; 1,00; 1,250 und 1,500 g/20 ml physiol. NaCl-Lösung gemessen. Von der Probe $1/2$ b wurde eine Eichkurve der Filtrate aus 0,25 bis 1,5 g Material/20 ml physiol. NaCl-Lösung angefertigt (Abb. 7).

Die Untersuchungsergebnisse sind in Tab. 11 - 12 zusammengefaßt.

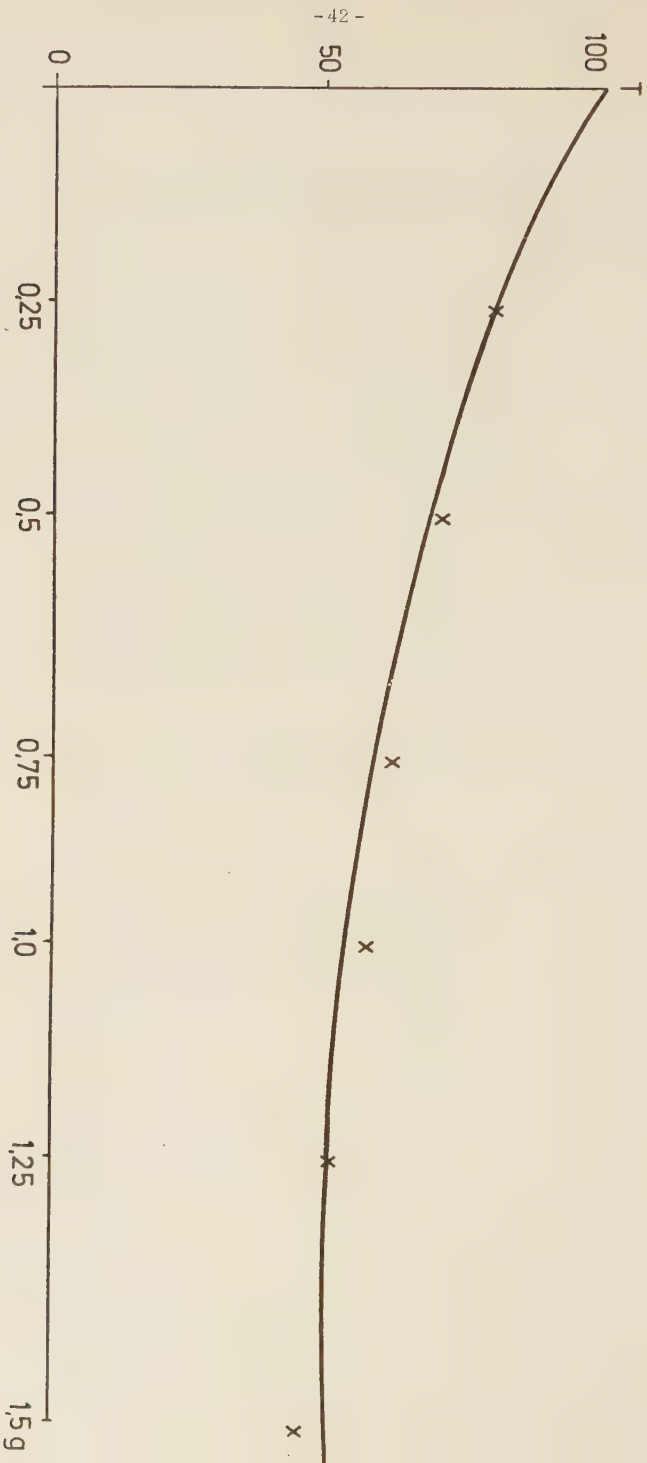
Tab. 11 : Transmissionen der Filtrate der lyophilisierten und entfetteten Chargen a

Charge	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
$1/2$ a	0,125	40,7
$2/2$ a	0,125	61,4
$3/2$ a	0,125	58,5
$4/2$ a	0,125	55,5
$5/2$ a	0,125	60,5
$6/2$ a	0,125	51,5

Tab. 12 : Transmissionen der Filtrate der lyophilisierten und entfetteten Chargen b

Charge	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
$1/2$ b	0,250	80,5
$1/2$ b	0,500	71,2
$1/2$ b	0,750	63,0
$1/2$ b	1,00	59,5
$1/2$ b	1,25	53,0
$1/2$ b	1,50	46,0
$2/2$ b	1,00	61,4
$3/2$ b	1,00	54,3
$4/2$ b	1,00	56,1
$5/2$ b	1,00	47,8
$6/2$ b	1,00	55,9

Abb. 7 : Eichkurve der Filtrate von Charge 1/2 b aus 0,25 bis 1,5 g Probenmaterial / 20 ml physiol. NaCl-Lösung



Bei den Chargen a reichte bereits eine Konzentration von 0,125 g/20 ml physiol. NaCl-Lösung aus, um einen deutlichen Pik zu erhalten. Für die Chargen b war zur Bildung eines deutlichen Piks 1,0 g/20 ml physiol. NaCl-Lösung notwendig.

Die gleichen Chargen wurden in einer weiteren Versuchsreihe auf 115 ° C Kerntemperatur erhitzt und gemessen. Trotz Erhöhung der Konzentration auf 1,5 ; 2,0 und 2,5 g/20 ml physiol. NaCl-Lösung konnte kein Pik mehr erzielt werden.

Da die bisherigen Untersuchungen an Modellchargen durchgeführt worden waren, von denen Rezeptur und Herstellung dem Untersucher bekannt waren, sollte nun in einer weiteren Untersuchungsreihe geprüft werden, ob die gefundenen Ergebnisse auch an Untersuchungsmaterial unbekannter Zusammensetzung reproduzierbar sind.

Um die Qualitätsunterschiede sichtbar machen zu können, wurden handelsübliche Roh- und Brühwürste verschiedener Qualitätsstufen untersucht.

c. Untersuchung handelsüblicher Rohwürste

Untersucht wurden :

Salami ungarischer Art

Italienische Salami

Salami I a

Cervelatwurst

Plockwurst einfach

Teewurst

Mettwurst, fein zerkleinert

Mettwurst, grob

d. Untersuchung handelsüblicher Brühwürste

Untersucht wurden :

Bierschinken

Bierwurst

Wiener

Dicke

Lyoner

Leberkäse

Stadtwurst

Münchner Weißwurst

Weißer im Ring

Das Untersuchungsmaterial wurde lyophilisiert und entfettet. Das entfettete Lyophilisat wurde mit 20 ml physiol. NaCl-Lösung (p_H 7.2) versetzt und mit dem Ultra-Turrax 1 min homogenisiert. Anschließend wurde die Probe 15 min bei 38° C inkubiert und filtriert. Das Filtrat wurde bei 408 nm gegen Luft gemessen.

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tab. 13 - 14 zusammengefaßt.

Tab. 13 : Transmissionen der Filtrate der lyophilisierten und entfetteten handelsüblichen Rohwürste

Material	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Italienische Salami	0,500	30,3
Salami	0,125	83,26
ungarischer Art	0,250	78,60
	0,500	68,50
Salami I a	0,500	78,3
Cervelatwurst	0,500	81,4
Plockwurst einfach	0,500	60,07
Teewurst	0,500	70,9
Mettwurst, fein zerkleinert	0,500	72,9
Mettwurst, grob	0,500	62,5

Tab. 14 : Transmissionen der Filtrate der lyophilisierten und entfetteten handelsüblichen Brühwürste

Material	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
Bierschinken	1,0	69,2
Bierwurst	1,0	49,8
Wiener	1,0	53,3
Dicke	1,0	64,3
Lyoner	1,0	58,3
Leberkäse	1,0	57,2
Stadtwurst	1,0	53,5
Münchner Weißwurst	1,0	68,9
Weißer im Ring	1,0	71,1

In einer weiteren Versuchsreihe wurden 12 Chargen angefertigt, deren Rezeptur und Herstellungsart dem Untersucher unbekannt waren und erst nach Vorliegen der Ergebnisse zugänglich waren.

e. Untersuchungen an Chargen unbekannter Rezeptur und Herstellung

Die Ergebnisse sind in Tab. 15 zusammengestellt.

Tab. 15 : Transmissionen der Filtrate des lyophilisierten und entfetteten Untersuchungsmaterials unbekannter Zusammensetzung

Charge	Konzentration in g/20 ml physiol. NaCl-Lösung	Transmission
1	1,0	65,3
2	1,0	66,2
3	1,0	65,7
4	1,0	58,6
5	1,0	69,7
6	1,0	63,9
7	1,0	64,5
8	1,0	60,5
9	1,0	63,1
10	1,0	62,6
11	1,0	64,0
12	1,0	64,3

Für die Chargen 1 - 12 wurden folgende chemischen Analysenwerte in % ermittelt :

Charge 1 : W 58,9; F 26,6; A 2,7; RP 12,4; BE 2,1

Charge 2 : W 58,9; F 26,6; A 3,1; RP 11,9; BE 1,7

Charge 3 : W 61,2; F 23,4; A 2,9; RP 11,3; BE 1,8

Charge 4 : W 58,9; F 27,2; A 2,6; RP 12,3; BE 1,6

Charge 5 : W 63,1; F 23,0; A 2,5; RP 10,7; BE 1,8

Charge 6 : W 61,3; F 25,1; A 2,5; RP 10,3; BE 2,1

Charge 7 : W 58,0; F 28,5; A 2,6; RP 10,1; BE 1,7

Charge 8 : W 60,1; F 24,6; A 2,6; RP 10,2; BE 1,8

Charge 9 : W 60,3; F 26,6; A 2,6; RP 10,2; BE 2,0

Charge 10 : W 59,9; F 26,5; A 2,4; RP 10,9; BE 2,0

Charge 11 : W 61,4; F 22,1; A 2,6; RP 9,9; BE 1,6

Charge 12 : W 62,6; F 25,9; A 2,7; RP 10,9; BE 1,8

Zeichenerklärung s. S. 35

Nach Angaben des Herstellers wurden die 12 Chargen auf eine Kerntemperatur von 83 °C erhitzt. Die Dauer der Temperatureinwirkung wurde nicht bekannt gegeben. Den 12 Chargen wurden ohne genaue Mengenangabe folgende Zusätze beigegeben :

Charge 1 : Sojaprotein

Charge 2 : Trockenblutplasma

Charge 3 : Global

Charge 4 : Milcheiweiß

Charge 5 : Eiklar

Charge 6 : Kontrollcharge

Charge 7 : enthielt 5 % mehr Fett als die Kontrollcharge

Charge 8 : Stärke

Charge 9 : Kleber

Charge 10 : 5 % Schwarten

Charge 11 : enthielt 5 % mehr Wasser als die Kontrollcharge

Charge 12 : 10 % Cooked Meat

Folgende Analysenwerte in % wurden bekannt gegeben :

Charge 1 : W 58,24; F 25,99; A 2,67; RP 12,58; ONF 13,10

Charge 2 : W 58,37; F 25,80; A 3,05; RP 11,73; ONF 12,78

Charge 3 : W 59,09; F 26,24; A 2,81; RP 11,36; ONF 11,86

Charge 4 : W 58,89; F 27,21; A 2,60; RP 12,33; ONF 11,30

Charge 5 : W 61,28; F 24,76; A 2,50; RP 10,04; ONF 11,50

Charge 6 : W 58,40; F 28,51; A 2,65; RP 10,21; ONF 10,44

Charge 7 : W 55,84; F 31,40; A 2,68; RP 8,53; ONF 10,08

Charge 8 : W 58,71; F 25,93; A 2,60; RP 9,63; ONF 12,76

Charge 9 : W 58,83; F 25,99; A 2,61; RP 12,61; ONF 12,57

Charge 10 : W 59,40; F 28,31; A 2,28; RP 10,54; ONF 10,01

Charge 11 : W 64,27; F 24,22; A 2,58; RP 7,23; ONF 8,93

Charge 12 : W 60,37; F 26,31; A 2,64; RP 8,35; ONF 10,68

Zeichenerklärung s. S. 35

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In den Voruntersuchungen wurde das Material lyophilisiert und entfettet und direkt im Verhältnis 1 : 80 mit verdünnter Giemsalösung angefärbt. Das Lyophilisat wurde mit physiol. NaCl-Lösung versetzt (1 : 1), 16 Stunden bei Zimmertemperatur inkubiert und filtriert. Das Filtrat wurde gegen verdünnte (1 : 200) Farblösung mit physiol. NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 1 versetzt, photometrisch gemessen. Dabei wurde außer den beiden Farbstoffpiks bei 660 und 515 nm ein dritter Pik bei 408 nm gefunden.

Da der Pik bei 408 nm bei Sehnen, Schwarten, Fremdeiweißen (aufgeschlossenes Milcheiweiß, frisches Hühnereiklar, Weizenkleber, Sojapräparate), Trockenblutplasma, verschiedenen Kutterhilfsmitteln, Gewürzmischungen und Nichteiweißstickstoffsubstanzen (u.a. Harnstoff) nicht gefunden wurde (Tabb. 2, 3, 4), sondern stets nur bei Schabefleisch, sehenarmem Fleisch, Fleisch wie gewachsen und Brät, wurde dieser Pik den bei p_H 7,2 löslichen, fleischeigenen Stickstoffverbindungen zugeordnet. Dabei verhielt sich die Pikhöhe bei 408 nm proportional zur Menge des wasserlöslichen Anteils der fleischeigenen Stickstoffverbindungen.

Im Hauptversuch wurde das Material nur in physiol. NaCl-Lösung 15 min bei 38° C inkubiert und das Filtrat photometrisch gegen Luft gemessen, wobei sich ebenfalls bei 408 nm ein Pik zeigte. Auch hier verhielt sich die Pikhöhe proportional zur Menge des bei p_H 7,2 löslichen Anteils der fleischeigenen Stickstoffverbindungen.

Von Schabefleisch (lyophilisiert und entfettet) wurde eine Eichkurve der Filtrate aus 0,025 bis 1,25 g Material / 20 ml physiol. NaCl-Lösung angefertigt (Abb. 8).

Abb. 8 : Eichkurve der Filtrate aus lyophilisiertem und entfettetem Schabelfleisch (0,025 - 1,25 g Material / 20 ml physiol. NaCl-Lösung)



In Abb. 9 sind die Transmissionen der Filtrate der in Tab. 5 untersuchten lyophilisierten und entfetteten Proben eingetragen und für Vergleiche auch eine Eichkurve von Schabefleisch. Dabei zeigte sich, daß bei schlachtwarmem Schabefleisch mehr Muskelprotein in Lösung ging als bei abgelagertem Schabefleisch. Die gleiche Beobachtung konnte beim Vergleich der Transmissionswerte von schlachtwarmem Fleisch wie gewachsen und abgehangenem Fleisch wie gewachsen gemacht werden.

Die Ergebnisse bestätigen die Angabe von CHAUDHRY (8), der sowohl bei Kaninchen- als auch bei Rindermuskulatur eine Abnahme der Löslichkeit mit zunehmender Lagerzeit feststellen konnte. Untersuchungen von LOCKER (51) ergaben, daß die Menge der wasserlöslichen Proteine im Muskel vor dem Rigor Mortis etwa 2 - 3 mal höher ist als zu Beginn des Rigor. Auf Grund dieser Beobachtungen bietet sich die Möglichkeit an, bei Feststellung der Transmissionen zu verschiedenen Zeitpunkten über den Verlauf einer Reifung, Daten zu erhalten.

Wie aus den in Tab. 6 zusammengefaßten Untersuchungsergebnissen ersichtlich ist, führt der Fettgehalt im Filtrat zu einer niedrigeren Transmission im Vergleich zu den Transmissionen von entfettetem Schabefleisch und entfetteter Lende. Dadurch wird ein höherer Anteil von bei p_H 7,2 in Lösung gehendem Muskeleiweiß vorgetäuscht.

Durch Vergleich der Transmissionswerte von Lende in Tab. 5, 6 und 7 wird deutlich, daß durch entsprechende Homogenisierung (Lyophilisation und Zerkleinerung in der Mikromühle) der Anteil des in Lösung gehenden Muskeleiweißes erhöht wird.

In Abb. 10 sind die Untersuchungsergebnisse aus Tab. 6 im Vergleich zur Eichkurve graphisch dargestellt.

Abb. 9:

Transmissionen der Filtrate aus lyophilisiertem und entfettetem Schabefleisch (schlachtwarm), Lende, Fleisch wie gewachsen (schlachtwarm), Fleisch wie gewachsen (abgehangen), Fleisch sehnenarm, Tartar, Rindfleisch und Brät im Vergleich zur Eichkurve von Schabefleisch

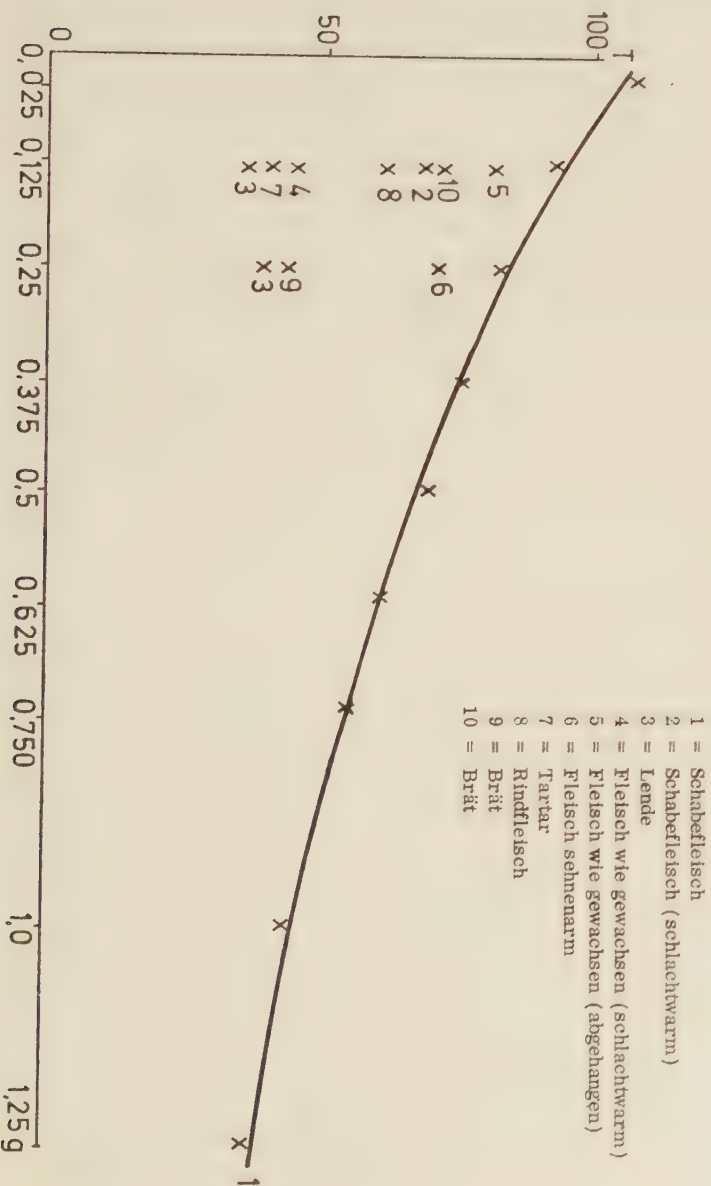


Abb. 10:

Transmissionen der Filtrate von lyophilisiertem, nicht entfettetem Schabelfleisch (schlachtwarm), Lende (geschabt) und Fleisch wie gewachsen im Vergleich zur Eichkurve von Schabelfleisch



Wie die Untersuchungsergebnisse verdeutlichen, reichte bereits eine Inkubationszeit von 15 min bei 38° C mit einer auf p_H 7,2 eingestellten physiol. NaCl-Lösung aus, um ein Inkubationsoptimum zu erhalten. Durch längere Inkubationszeiten bei 38° C konnte keine deutliche Verbesserung festgestellt werden (Tab. 8). Für die weiteren Untersuchungen wurde deshalb eine Inkubationszeit von 15 min beibehalten.

Die Transmissionsdifferenzen, die bereits bei verschiedenen Fremdeiweißpräparaten, Wurstzusatzmitteln (z. B. Kutterhilfsmittel und Gewürze) und Bindegewebe gegenüber den Transmissionen von Schabefleisch beobachtet werden konnten, fanden sich auch bei Gemischen aus Fleisch und Fremdeiweißen.

Um zu prüfen, ob die in Tab. 5, 6 und 7 gefundenen Transmissionswerte auch bei rohen und erhitzten Fleischerzeugnissen reproduzierbar sind, wurden Modellchargen mit bekannter Rezeptur hergestellt. Bei der Auswertung zeigte sich, daß bei den Chargen, denen verschiedene Fremdeiweiße zugesetzt worden waren, im Vergleich zur Kontrollcharge die Transmissionen höher waren (Tab. 9).

Die Differenz zur Transmission der Kontrollcharge muß auf den Gehalt des gleichzeitig in Lösung gegangenen Fremdeiweißes im Filtrat zurückgeführt werden. Bei fremdeiweißhaltigem rohen Material wird somit durch Erhöhung der Transmission ein geringerer Anteil an löslichem Muskeleiweiß vorgetäuscht. Auch MONTAG (57) gelang es nicht, das im Filtrat enthaltene Casein, Blutplasmaalbumin, Sojaprotein und Eiweiß vom Muskelprotein zu trennen.

Gleiche Beobachtungen wurden auch bei den Untersuchungen der Chargen $1\frac{1}{2}$ a - $6\frac{1}{2}$ a (Tab. 11) gemacht. Gegenüber den Chargen 1 a - 9 a (Tab. 9) zeigen die Transmissionen der Chargen $1\frac{1}{2}$ a - $6\frac{1}{2}$ a eine stärkere Differenz, die nicht nur durch den Gehalt an gelöstem Fremdeiweiß hervorgerufen worden sein kann, sondern vermutlich zusätzlich durch den Zeitpunkt der Untersuchung des Materials beeinflusst worden ist. Die Untersuchungen der Chargen 1 a - 9 a erfolgten sofort im Anschluß an ihre Fertigung, während die Untersuchungen der Chargen $1\frac{1}{2}$ a - $6\frac{1}{2}$ a ca. 4 Monate nach Herstellung durchgeführt wurden.

Die Unterschiede der Transmissionen der Chargen 1 b - 9 b und $1/2$ b - $6/2$ b sind dagegen wesentlich geringer.

Es scheint, daß durch die Temperatureinwirkung das Material "stabiler" wird, so daß hier der Einfluß des Untersuchungszeitpunktes nach der Herstellung nicht berücksichtigt werden muß. Demgegenüber ist es jedoch bei rohem Material aus Gründen der Reproduzierbarkeit der Untersuchungsergebnisse empfehlenswert, Proben innerhalb von 14 Tagen nach Herstellung zu prüfen.

Abb. 11 zeigt die Filtrattransmissionen der Chargen 1 a - 9 a, Abb. 12 diejenigen der Chargen 1 b - 9 b im Vergleich zu den Gesamtstickstoffverbindungen im lyophilisierten und entfetteten Material der gleichen Chargen. Aus den Abbildungen wird deutlich, daß die Transmissionen entsprechend den Gesamteiweißgehalten dargestellt werden können. Die Transmissionen der Chargen mit Sojaproteinzusatz lassen vermuten, daß bei diesen Chargen mehr Muskeleiweiß in Lösung geht als bei den anderen fremdeiweißhaltigen Chargen. Das gleiche scheint auch bei der auf 70° C erhitzten Charge mit aufgeschlossenem Milcheiweiß der Fall zu sein (Abb. 11, 12).

Bei den rohen Chargen a ist der Anteil an löslichen fleischeigenen Stickstoffsubstanzen im Filtrat höher als bei den erhitzten Chargen b (Tabb. 9 und 10). Für die photometrische Untersuchung bedeutet das, daß bei bis auf 70° C erhitztem Material die 6-fache Menge im Vergleich zum Rohmaterial benötigt wird, um unter gleichen Bedingungen die gleiche Pikhöhe zu erreichen.

Bei den bis auf 115° C erhitzten Chargen $1/2$ b - $6/2$ b konnte trotz Erhöhung der Ausgangsmenge über das 6-fache hinaus kein Pik mehr gefunden werden. Durch die hohe Temperatureinwirkung konnte mittels des angewendeten Inkubationsverfahrens kein meßbarer Anteil an Muskeleiweiß mehr in Lösung gebracht werden.

Abb. 11.: Transmissionen der Filtrate aus den Chargen 1 - 9 a im Vergleich zu den Gesamtstickstoffverbindungen im entteten Lyophilisat der gleichen Chargen

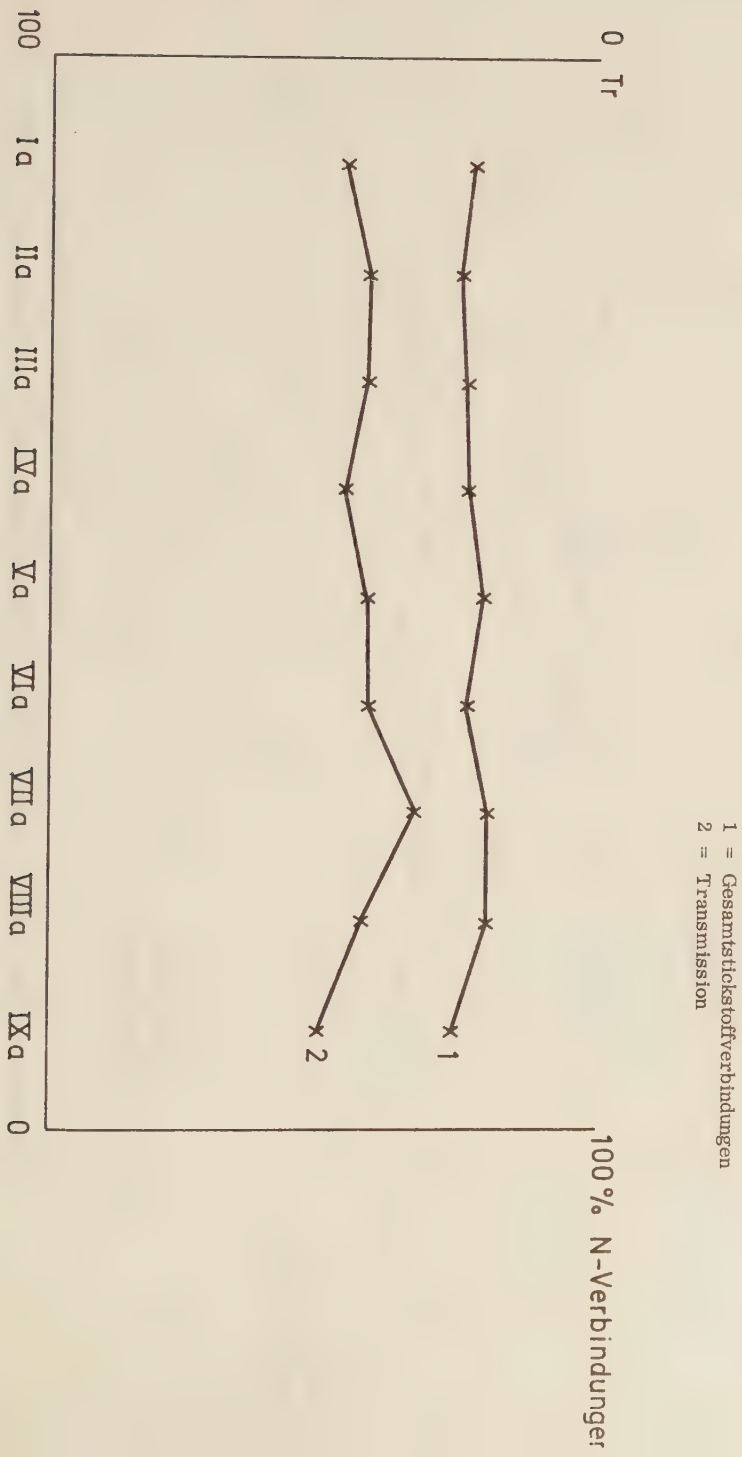


Abb. 12: Transmissionen der Filtrate aus den Chargen I - 9 b im Vergleich zu den Gesamtstickstoffverbindungen im entleerten Lyophilisat der gleichen Chargen

1 = Gesamtstickstoffverbindungen
2 = Transmission

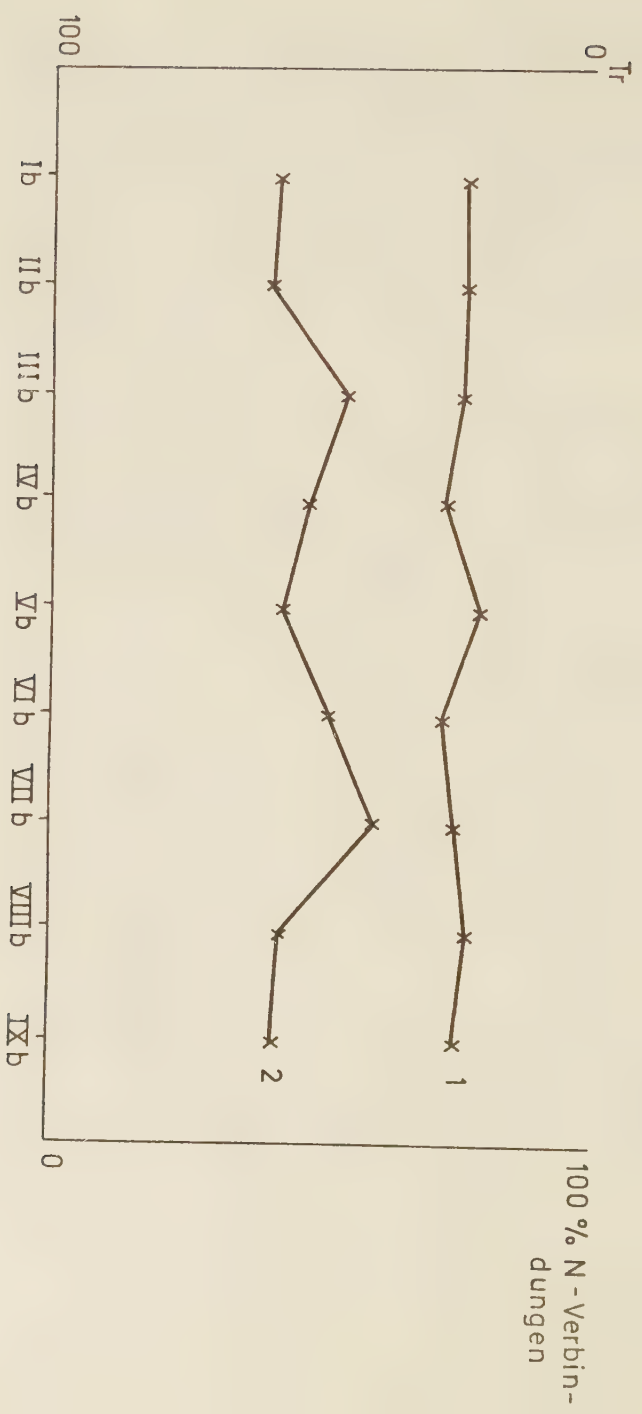


Abb. 13 zeigt die Transmissionen der Filtrate der Chargen 1/2 a - 6/2 a im Vergleich zu den Gesamtstickstoffverbindungen und dem löslichen bindegewebeiseiweißfreien Fleischeiweiß im entfetteten Lyophilisat der gleichen Chargen.

Die Gesamtstickstoffverbindungen im Filtrat wurden nach der Formel

100 x RP (in Lyophilisat)

100 minus (Fett + Wasser im Ausgangsmaterial)

berechnet.

Das lösliche bindegewebeiseiweißfreie Fleischeiweiß errechnete sich nach folgendem Ansatz :

Gesamtstickstoffverbindungen in % im Filtrat minus Bindegewebeiseiweiß im Filtrat = lösliches bindegewebeiseiweißfreies Fleischeiweiß.

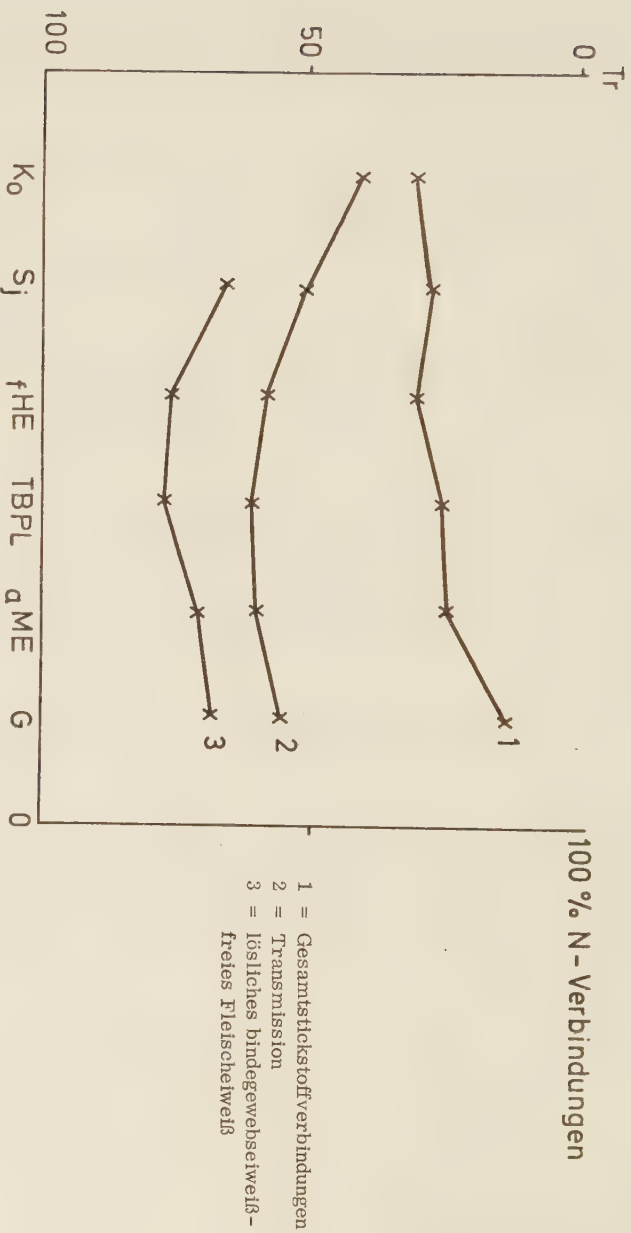
Die Rohproteingehalte (N x 6,25) wurden nach KJELDAHL mit dem Kjel-Foss-Apparat bestimmt.

Die Hydroxyprolinbestimmungen für die Ermittlung des Bindegewebeiseiweißes erfolgten nach der, von der Arbeitsgruppe "Fleischwaren" des Arbeitskreises Nordrhein-Westfalen in der GDCh-Fachgruppe "Lebensmittelchemie-Gerichtliche Chemie", vorgeschlagenen Methode nach STEGEMANN (82).

Aus den Abb. 13 und 14 wird deutlich, daß der Anteil an löslichen fleischeigenen Stickstoffsubstanzen mit steigendem Temperatureinfluß abnimmt.

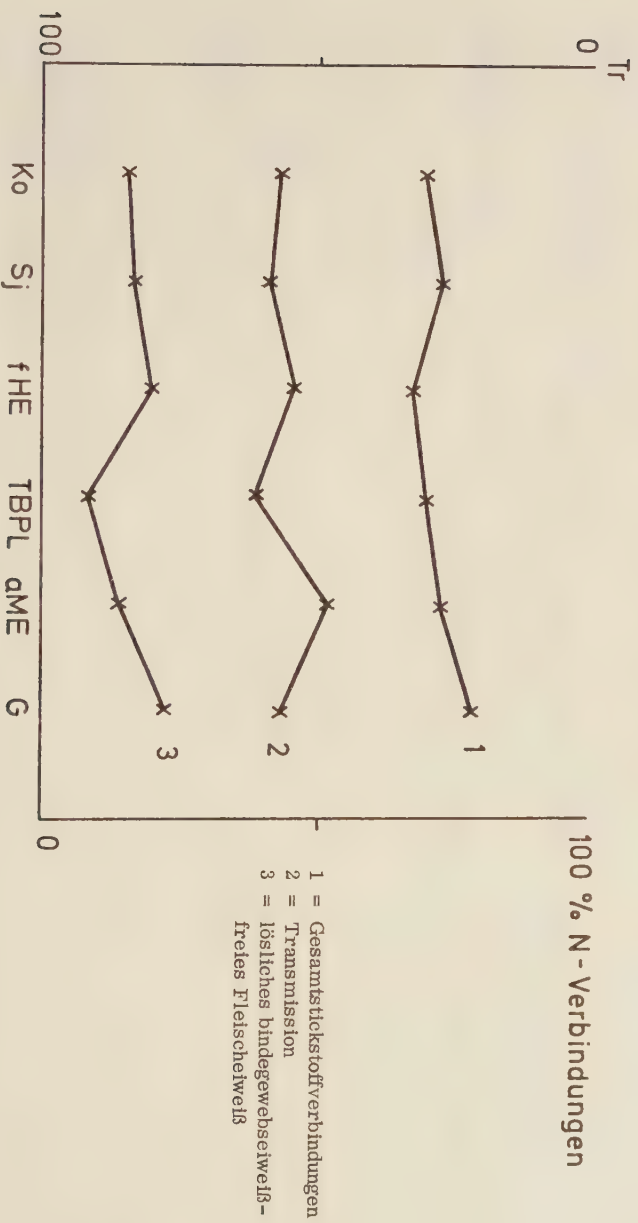
Abb. 15 zeigt die Transmissionen der Filtrate der in Tab. 15 zusammengefaßten Untersuchungsergebnisse von Material unbekannter Zusammensetzung. Wie Abb. 15 zeigt, ist auf Grund der Transmissionswerte eine objektivere Beurteilung der Erzeugnisse möglich als auf Grund der Gesamtstickstoffverbindungen.

Abb. 13: Transmissionen der Filtrate von den Chargen $1/2$ a - $6/2$ a im Vergleich zu den Gesamtstickstoffverbindungen und dem löslichen bindgewebeweißfreien Fleischeiweiß im entfetteten Lyophilisat der gleichen Chargen



Zeichenerklärung : Ko = Kontrolle
 Sj = Sojaprotein
 fHE = frisches Hühnereiweiß
 TBPL = Trockenblutplasma
 aME = aufgeschlossenes Milcheiweiß
 G = Gluten (Weizenkleber)

Abb. 14: Transmissionen der Filtrate aus den Chargen $1/2$ b - $6/2$ b im Vergleich zu den Gesamtstickstoffverbindungen und dem löslichen bindgewebseiwässfreien Fleischeiweiß im enttetenen Lyophilisat der gleichen Chargen



Ab. 15: Transmissionen der Filtrate aus unbekanntem Untersuchungsmaterial im Vergleich zu den Gesamtnitrostoffverbindungen des Ausgangsmaterials sowie dem Anteil des löslichen bindeweisseiweißfreien Fleischseiwisses

- 1 = Gesamtnitrostoffverbindungen
- 2 = Transmission
- 3 = lösliches bindeweisseiweißfreies Fleischseiwiss



In Abb. 16 wurden die gemessenen Transmissionen der Filtrate aus handelsüblichen Rohwürsten im Vergleich zur Eichkurve von Schabefleisch aufgetragen. Die Höhe der Transmission gibt Aufschluß über den Anteil an löslichem Muskeleiweiß.

In Abb. 17 wurden die gemessenen Transmissionen handelsüblicher Brühwürste im Vergleich zur Eichkurve der Kontrollcharge 1 b aufgetragen. Auch hier gibt die Höhe der Transmission Aufschluß über den Anteil an löslichem Muskeleiweiß.

Abb. 16 : Transmissionen der Filtrate aus handelsüblichen Rohwurst-
chargen im Vergleich zur Eichkurve von Schabefleisch

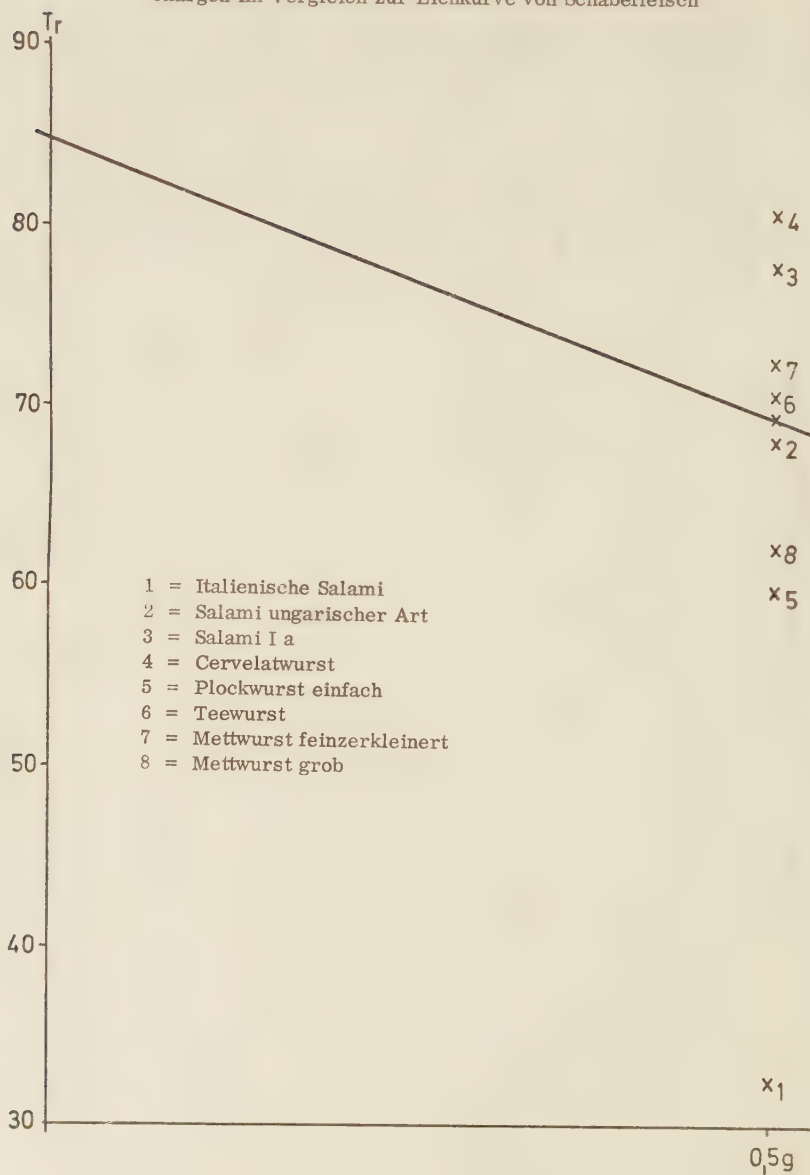
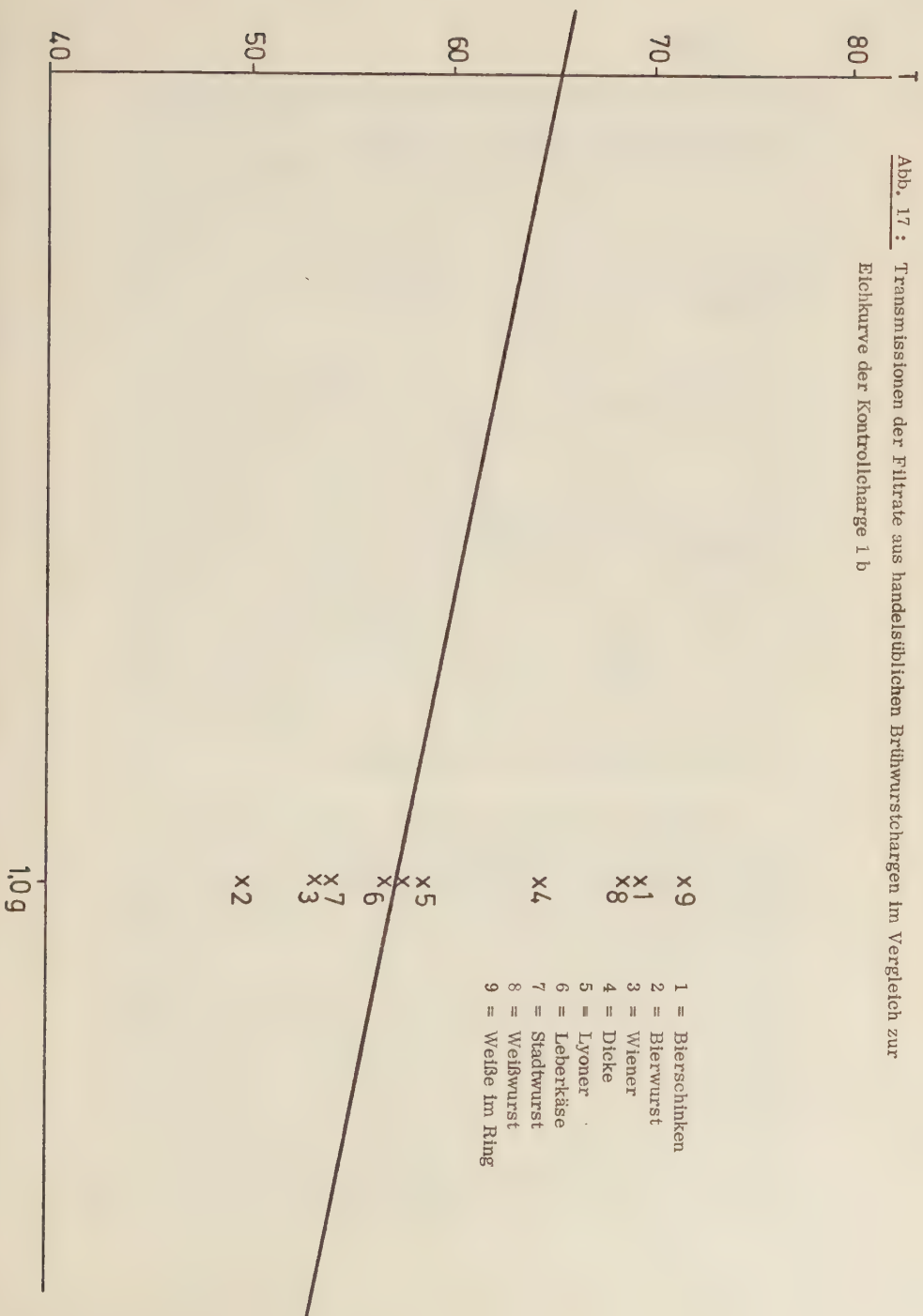


Abb. 17: Transmissionen der Filtrate aus handelsüblichen Brühwurstchargen im Vergleich zur Eichkurve der Kontrollcharge 1 b



E. DISKUSSION

Bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen interessiert vorrangig der Gehalt an bindegewebsweißfreiem Fleischeiweiß. Seine Ermittlung erfolgte bisher indirekt, indem von der Gesamtstickstoffsubstanz die Gehalte an Bindegewebsweiß, fremder Nichteiweiß-Stickstoffsubstanz und Fremdeiweiß in Abzug gebracht wurden. Diese indirekte Bestimmung des bindegewebsweißfreien Fleischeiweißes ist jedoch sehr aufwendig und mit Fehlern behaftet.

Zur Ermittlung des Rohproteingehaltes eines Erzeugnisses wird der Gesamtstickstoffgehalt (N) mit dem Faktor 6,25 multipliziert. Dabei wird unterstellt, daß der Stickstoffgehalt der Stickstoffverbindungen konstant ist. In Wirklichkeit ist aber der Stickstoffgehalt in kollagenem Gewebe z. B. höher, in aufgeschlossenem Milcheiweiß niedriger als im Magerfleisch. Die Berechnung des Bindegewebsweißgehaltes müßte in Wirklichkeit durch Multiplikation mit dem Faktor 5,55 erfolgen, die des Gehaltes an aufgeschlossenem Milcheiweiß mit einem Faktor $> 6,25$. Der durch Multiplikation des analytisch erfaßten Stickstoffgehaltes mit dem Faktor 6,25 ermittelte Rohproteinwert ist also in Wirklichkeit nur bedingt verwertbar; er ist nicht unbedingt mit dem "Gesamteiweiß" (= Summe aller Stickstoffverbindungen) identisch.

Das Gesamteiweiß ergibt sich am sichersten aus dem Vergleich des Gehaltes an Rohprotein (Stickstoffgehalt $\times 6,25$) mit dem Gehalt an organischem Nichtfett (= Differenz zwischen 100 und der Summe aus den Prozenten an Wasser, Fett und Asche). Sofern sich die Gehalte an Rohprotein und organischem Nichtfett decken, ist dieser Wert repräsentativ. Wenn sich die Werte nicht decken, gilt der niedrigere Wert als Gesamteiweiß. Entsprechendes gilt auch dann, wenn der Wert von organischem Nichtfett minus etwa vorhandener Kohlenhydrate niedriger liegt als der Rohproteingehalt.

Die Bestimmung des Bindegewebsweißes erfolgt überwiegend mittels der Hydroxyprolinmethode (82). Sie liefert unter den chemischen Methoden

zur Ermittlung des Bindegewebsseiweißes die befriedigendsten Ergebnisse. Bei dieser Methode wird allerdings das elastische Bindegewebe vernachlässigt, weil es ähnlich wie Muskeleiweiß nur sehr wenig Oxyprolin enthält und so zu Manipulationen verwendet werden könnte (39).

Die Erfassung der Fremdeiweiße bereitet noch größere Schwierigkeiten. Chemisch kann bisher nur Milcheiweiß erfaßt werden, doch selbst diese Bestimmung ist mit erheblichen Unsicherheiten belastet.

Serologische Methoden (27, 46) sind jedoch außerordentlich aufwendig und zwar vor allen Dingen dann, wenn man die Anwesenheit von Fremdeiweißen jeglicher Art ausschließen will.

Eine weitere Komplikation der indirekten Bestimmung des bindegewebsseiweißfreien Fleischeiweißes sind die fremden Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen. Durch Rest-N-Bestimmung (74, 75) eine Konvention über die Höhe des möglichen fleischeigenen Rest-N-Gehaltes könnte man diese Lücke einigermaßen befriedigend schließen, obwohl insbesondere bei gereiften Waren mit Unsicherheiten gerechnet werden muß.

Die indirekte Bestimmung des bindegewebsseiweißfreien Fleischeiweißes war nach wie vor unbefriedigend, und der Wunsch nach einer Methode zur direkten Bestimmung des Muskeleiweißanteils blieb wach.

Im Institut wird seit langem daran gearbeitet, den Muskeleiweißanteil über eine Extraktion und Auskochung der Anteile aus Bindegewebsseiweiß, Fremdeiweiß und der Nichteiweiß-Stickstoffsubstanz direkt zu ermitteln.

In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, inwieweit durch photometrische Auswertung der Filtrate aus Fleischerzeugnissen das bindegewebsseiweißfreie Fleischeiweiß (BEFFE) direkt bestimmt werden kann.

Zunächst wurde versucht, die mit GIEMSA versetzten Proteinlösungen photometrisch auszuwerten. Dabei wurde neben den "Farbstoff"-Piks

bei 660 und 515 nm ein dritter Pik bei 408 nm gefunden. Da dieser Pik bei Sehnen, Schwarten, Fremdeiweißen, Nitritpökelsalz, verschiedenen Gewürzmischungen und Harnstoff nicht gefunden wurde (Tabb. 2, 3, 4), sondern nur bei Schabefleisch, sehnenarmem Fleisch und Fleisch wie gewachsen, wurde dieser Pik den bei $p_{\text{H}} 7,2$ löslichen fleischeigenen Stickstoffverbindungen zugeordnet.

Wie Abb. 3 zeigt, handelt es sich bei den gemessenen Filtraten um Proteinlösungen. Abzuklären bliebe noch, welche von den bei $p_{\text{H}} 7,2$ in-Lösung-gehenden Proteinen in diesen Filtraten vorliegen.

Die in Tab. 5 aufgeführten Transmissionen zeigen, daß bei einer nicht mit GIEMSA versetzten Proteinlösung ebenfalls ein Pik bei 408 nm erhalten wurde. Vergleicht man die Transmissionswerte in Tab. 6 mit den Transmissionswerten der gleichen Proben in Tab. 5, so ist zu erkennen, daß Fett im Filtrat einen höheren bei $p_{\text{H}} 7,2$ löslichen Muskeleiweißanteil vortäuscht.

Wie die Transmissionswerte in Tabb. 5 u. 6 zeigen, wird durch entsprechende Homogenisierung (Lyophilisation und Zerkleinerung in der Mikro-Mühle) der Anteil des in-Lösung-gehenden Muskeleiweißes erhöht.

Lende (Tab. 6), die nach der Lyophilisation und Homogenisierung nicht entfettet wurde, zeigte einen niedrigeren Transmissionswert als nach Entfettung, wodurch ein höherer Gehalt an löslichem Muskelprotein vortäuscht wurde. Zur Erzielung realer Ergebnisse sind also gründliche Entfettung und schonende Lyophilisation des Probenmaterials Voraussetzung. Außerdem ist das Probenmaterial nach der Lyophilisation sofort zu entfetten, da bei nicht entfettetem Lyophilisat, das gelagert wurde, kein Pik mehr gefunden werden konnte.

Bei Untersuchungen von nicht erhitzten Modellchargen mit Fremdeiweiß-zusätzen beeinflussten die im Filtrat enthaltenen Fremdeiweiße die Meßergebnisse. Im Gegensatz zum Auskochverfahren (40), bei dem Fremdeiweiß als Muskeleiweiß miterfaßt wird (34), zeigt sich bei der photo-

metrischen Bestimmung des Muskeleiweißanteils bei nicht erhitzten fremdeiweißhaltigen Erzeugnissen, daß der tatsächlich vorliegende Muskeleiweißgehalt verringert wird (Tab. 9).

Dagegen wurde bei den 30 min auf 70⁰ C erhitzten Modellchargen (Tab. 10) durch Zusatz aufgeschlossenen Milcheiweißes bzw. Sojaproteins ein höherer Muskeleiweißgehalt vorgetäuscht als bei der Kontrollcharge. Solange keine geeignete Methode zur Verfügung steht, die eine summarische Trennung der Fremdeiweiße vom Fleischeiweiß ermöglicht, ist die photometrische Methode zur direkten Ermittlung des Muskeleiweißanteils mit ähnlichen Fehlerquellen behaftet, wie die bisher benutzten chemischen (7, 56) Untersuchungsmethoden. Die in Tab. 12 aufgeführten Modellchargen wurden bis auf 115⁰ C erhitzt und photometrisch untersucht. Trotz Erhöhung der Filtratkonzentration bis auf 2,5 g/20 ml NaCl-Lösung war kein Pik mehr zu erhalten. Mit dieser Methode konnten daher nur an Modellchargen von Roh- und Brühwürsten, die nicht über 70⁰ C (Kerntemperatur) erhitzt worden waren, reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden.

Wie die in Tab. 13 und 14 zusammengefaßten Untersuchungsergebnisse von Erzeugnissen aus dem Handel zeigen, sind jedoch mit Hilfe der photometrischen Untersuchungsmethode Rückschlüsse auf den Gehalt an bindegewebs-eiweißfreiem Fleischeiweiß auch möglich. Nach dem Leitsatzentwurf für Fleisch und Fleischerzeugnisse (37) soll der Gehalt an bindegewebs-eiweißfreiem Fleischeiweiß bei original italienischer Salami nicht unter 14,5 % liegen. Der Transmissionswert von 30,3 in Tab. 13 zeigt, daß bei diesem Erzeugnis ein hoher Anteil an löslichem Muskeleiweiß im Filtrat gemessen wurde. Demgegenüber wurden bei feinkerkleinerter Mettwurst und Teewurst höhere Transmissionswerte von 72,9 bzw. 70,9 gemessen (Tab. 13), die einen geringeren Anteil an löslichem Muskeleiweiß im Filtrat anzeigen. Die Transmissionen von Plockwurst einfach (60,07) und Mettwurst grob (62,5) lassen einen höheren Gehalt an Muskeleiweiß vermuten als die im

Leitsatzentwurf mit 10 bzw. 8,5 % vorgesehenen. Ob diese beiden Ergebnisse tatsächlich einen höheren Gehalt an bindegewebeisweißfreiem Fleischeiweiß aufgewiesen haben oder nur ungenügende Entfettung des Lyophilisats diese Werte vorgetäuscht haben, konnte nicht geklärt werden.

Bei den untersuchten Brühwürsten wiesen Erzeugnisse, bei denen ein niedriger Gehalt an bindegewebeisweißfreiem Fleischeiweiß gefordert wird, wie Münchner Weißwurst und Weiße im Ring, die höchsten Transmissionswerte auf (Tab. 14).

Wiener, Dicke und Lyoner, Erzeugnisse bei denen gleich hohe Gehalte für das bindegewebeisweißfreie Fleischeiweiß vorgesehen sind, zeigten nahezu übereinstimmende Transmissionswerte, die im Gegensatz zu den Werten bei Weißwurst und Weiße im Ring deutlich niedriger lagen.

Die hier beschriebene photometrische Untersuchungsmethode zur direkten Bestimmung des bindegewebeisweißfreien Fleischanteils in Fleischerzeugnissen erlaubt bei gründlich entfettetem fremdeiweißfreiem Untersuchungsmaterial, das im Kern nicht über 70 ° C erhitzt worden ist, eine objektive Aussage. In fremdeiweißhaltigem nicht erhitztem Untersuchungsmaterial wird jedoch durch den Anteil des im Filtrat enthaltenen Fremdeiweißes ein geringerer Gehalt an bindegewebeisweißfreiem Fleischeiweiß vorge-täuscht. Demgegenüber werden durch Zusätze von aufgeschlossenem Milcheiweiß und Sojaprotein bei bis auf 70 ° C erhitzten Fleischerzeugnissen höhere Gehalte vorgetäuscht.

Würzen und fremde Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen, z.B. Harnstoff, sind bei der photometrischen Methode mit Sicherheit auszuschließen, da die geprüften Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen bei 408 nm keinen Pik zeigten.

Da die beschriebene Methode einfach durchzuführen ist und wenig Zeit- und Materialaufwand erfordert, würde sie sich besonders für die Routine der Lebensmittelüberwachung eignen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Literatur über photometrische Untersuchungsmethoden, Muskeleiweißextraktion sowie Qualitätsbeurteilung von Fleisch-erzeugnissen wurde besprochen.
2. Aus abgelagertem und schlachtwarmem Schabefleisch, Fleisch wie gewachsen, sehnenarmem Fleisch, Tartar und Brät wurden Filtrate hergestellt und bei einem Wellenbereich von 408 nm photometrisch gemessen.
3. Unerhitzte und bis auf 70⁰ C Kerntemperatur erhitzte Modell-
chargen sowie Brühwürste unbekannter Rezeptur als auch handels-
übliche Roh- und Brühwürste wurden untersucht.
4. In garantiert fremdeiweißfreien Fleischerzeugnissen, die nicht
höher als bis auf 70⁰ C Kerntemperatur erhitzt wurden, sind
mit dem erarbeiteten Untersuchungsverfahren direkte Rückschlüsse
auf den Gehalt an bindegewebeiseiweißfreiem Fleischeiweiß möglich.
5. Bei fremdeiweißhaltigen rohen Chargen wird aufgrund der
Transmissionserhöhung ein geringerer Anteil an Muskeleiweiß
im Erzeugnis vorgetäuscht.
6. Bei bis auf 70⁰ C Kerntemperatur erhitzten Chargen mit Zusätzen
von Sojaprotein und aufgeschlossenem Milcheiweiß wird aufgrund
der gefundenen Transmissionswerte ein höherer Anteil an binde-
gewebeiseiweißfreiem Fleischeiweiß vorgetäuscht.
7. Das erarbeitete Verfahren eignet sich nicht zur Qualitätsbeurteilung
von Fleischerzeugnissen, die auf 115⁰ C erhitzt worden sind.

SUMMARY

- (1) In the literature photometric analyses, muscle protein extractions and critical examination of meat products were discussed.
- (2) Filtrats were made from matured and recently slaughtered scraped meat, naturally grown meat, meat with few tendons, tatar and a mixture of fine cutted meat, fat, ice, spices, salts and were photometrically measured with a wave length of 408 nm.
- (3) Unheated and up to 70⁰ C temperature in the core heated model-ranks of unknown recipes were as well examined as raw- and scalded sausages usual in trade.
- (4) In meat products, absolutely free of foreign proteins, which were not heated over a temperature of 70⁰ C in the core, direct conclusions of the proportion of meat protein free of connective tissue protein are possible.
- (5) In raw ranks, containing foreign proteins, the increase of the transmission will make believe a less portion of muscle protein.
- (6) In ranks heated to a core temperature of 70⁰ C to which sojaprotein and decomposed milkprotein were added, the founded transmissions will make believe a higher portion of meat protein free of connective tissue protein.
- (7) The method is not suited for the quality judgement of meat products over a degree of 115⁰ C.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. Amberson, W.R., B. Chinn, T. Erdös und H. Ludes :
Electrophoretic and ultracentrifugal
analysis of protein extracts from
whole mammalian muscles.
J. Biol. Chem. 181 (1949), 405 ;
2. Bailey, K. : Tropomyosin : a new asymmetric
protein of the muscle fibril.
Biochem. J. 43 (1948), 271 ;
3. Baranowski, T. : Die Isolierung von kristallisierten
Proteinen aus Kaninchenmuskeln.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
260 (1939), 43 ;
4. Bard, J.C. : Some factors influencing extracta-
bility of saltsoluble proteins.
In : *Proc. Meat Ind. Res. Conf.* zit.
nach : R.L. Saffle (71), S. 84 ;
5. Bate-Smith, E.C. : Native and denaturated muscle
proteins.
Proc. Roy. Soc. B. 124 (1937), 136 ;
6. Boyden, S.V. : The absorption of proteins on
erythrocytes treated with tannic
acid and subsequent hemagglutina-
tion by antiprotein in sera.
J. Exper. Med. 93 (1951), 107 ;

7. Brieskorn, K.H., und H.W. Berg : Ein vereinfachtes Verfahren zur Tryptophan-Bestimmung.
Z. Lebensm. Unters.-Forsch.
109 (1958), 302;
8. Chaudhry, H.M., F.C. Parrish, jr. and D.E. Goll :
Molecular properties of post-mortem muscle, 6. Effect of temperature on protein solubility of rabbit and bovine muscle.
J. Food Sci. 34 (1969), 183;
9. Corsi, A., and S.V. Perry : Some observations on the localization of myosin, actin and tropomyosin in the rabbit myofibril.
Biochem. J. 68 (1958), 12;
10. Crepax, P. : Etude comparative des protéines des muscles donnés des différentes propriétés morphologiques et fonctionnelles.
Biochim. Biophys. Acta 9 (1952), 385;
11. Davey, C.L., and K.V. Gilbert : Studies in meat tenderness. 4. Changes in the extractability of myofibrillar proteins during meat aging.
6. The nature of myofibrillar proteins extracted from meat during aging.
J. Food Sci. 33 (1968), 2 und 343;

12. Dean, H.R., and R.A. Webb : The influence of optimal proportions of antigen and antibody in the serum precipitation reaction.
J. Path. Bact. 29 (1926), 473;
13. Degenkolb, E., und M. Hingerle : Untersuchungen über den serologischen Nachweis von Fremdeiweißzusätzen.
Arch. Lebensmittelhyg. 18 (1967), 241;
14. Degenkolb, E., und M. Hingerle : Eine serologische Schnellmethode zum quantitativen Nachweis von Fremdeiweißzusätzen in hitzedenaturierten Fleischerzeugnissen.
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 73;
15. Dwornikowa, P.D. : Isolierung von kristallisiertem Myogen A und B aus Schweinemuskeln und Ausarbeitung einer Methode ihrer getrennten Kristallisation.
Ref. Chem. Zbl. 125 (1954), 1978;
16. Edsall, J.E. : Studies in the physical chemistry of muscle globulin. II. On some physico-chemical properties of muscle globulin (myosin).
J. Biol. Chem. 89 (1930), 289;
17. Edsall, J.E., and I.W. Mehl : The effect of denaturing agents on myosin. II. Viscosity and double refraction of flow.
J. Biol. Chem. 133 (1940), 409;

18. Fürth, O. v. : Über die Eiweißkörper des Muskelplasmas.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 36
(1895), 231;
zit. nach : H.H. Weber (96), S. 87;
19. Fukazawa, T., Y. Hashimoto and T. Yasui :
The relationship between the components of myofibrillar protein and the effect of various phosphates that influence the binding quality of sausage.
J. Food Sci. 26 (1961), 550;
20. Grassmann, W., und J. Trupke : Eiweißstoffe.
In : B. Flaschenträger und E. Lehnartz :
Physiologische Chemie, Band I.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1951, S. 584;
21. Grau, R. : Fleisch und Fleischwaren.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
1969;
22. Grothaus, H. : Zum Einfluß der Zerkleinerung des Fleisches auf die Extrahierbarkeit von Muskeleiweißkörpern.
Vet. med. Diss. München 1957;
23. Hasselbach, W., und G. Schneider : Der L-Myosin- und Actingehalt des Kaninchenmuskels.
Biochem. Z. 321 (1951), 462 ;
24. Haurowitz, F. : The chemistry and function of proteins.
Academic Press, New York and London
1963;

25. Heidelberger, M. : Quantitative absolute methods of study of antigen-antibody reactions. Bact. Rev. 3 (1949), 49;
26. Hellmann, H. : Vergleichend Untersuchungen nach dem Auskochverfahren durch Kochen in Wasser und dem Verfahren mit Weinsäure. Protokoll des 19. Fortbildungslehrganges des Senators für Arbeit, Gesundheit und Soziales für in Veterinäruntersuchungsämtern amtlich tätige Tierärzte vom 11. - 13. Dez. 1968 in Berlin;
27. Herrmann, Ch., Ch. Merkle und L. Kotter : zur Problematik serologischer Nachweisreaktionen für Fremdeiweiße in erhitzten Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft 53 (1973), 97;
28. Hofmann, K., und I. F. Perry : Methode zur Identifizierung und quantitativen Bestimmung von Fleisch- und Fremdeiweiß mit Hilfe der SDS-Polyacrylamid-Elektrophorese auf Flachgelen. Fleischwirtschaft 53 (1973), 257;
29. Huxley, H. E. : Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle. J. Mol. Biol. 7 (1963), 281;

30. Huxley, H. E., and J. Hanson : Quantitative studies
on the structure of cross-striated
myofibrills. I. Investigations by
interference microscopy.
Biochim. Biophys. Acta 23 (1957), 229;
31. Jaisle, F. : Viskosität; Aktivität und Zusammen-
setzung künstlicher Actomyosin-
mischungen.
Biochem. Z. 321 (1951), 451;
32. Jörn, J. : Zur Eignung des Sedimentierverfahrens
bei der Brühwurstuntersuchung.
Arch. Lebensmittelhyg. 15 (1964), 255;
33. Karison, P. : Kurzes Lehrbuch der Biochemie für
Mediziner und Naturwissenschaftler.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1961;
34. Köberlein, W., und P. Blasenbrei: Vergleichende
Untersuchungen zum "Auskochverfahren".
Mitt. -Bl. d. GDCh-Fachgr. Lebensmittel-
chemie u. gerichtl. Chemie 27 (1973), 117;
35. Kortüm, G. : Kolorimetrie, Photometrie und Spektro-
metrie.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg,
New York, 1962;
36. Kotter, L. : Neue Wege bei der histologischen Wurst-
untersuchung.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 68
(1955), 360;

37. Kotter, L. : Qualitätsrichtlinien für Wurstwaren ab 1.1.1957 als Verbandsnorm in Kraft getreten, aber noch ohne Zustimmung von seiten der Ministerien. Schlacht und Viehhof-Ztg. 57 (1957), 130;
38. Kotter, L. : Zur Wirkung kondensierter Phosphate und anderer Salze auf tierisches Eiweiß. Verlag M. und H. Schaper, Hannover 1960;
39. Kotter, L. : Diskussionsbeitrag zu "Zur Beurteilung von Fleischwaren aus chemischen Kollagen- und anderen Bestimmungen". Mitt.-Bl. d. GDCh-Fachgr. Lebensmittelchemie u. gerichtl. Chemie 21 (1967), 108;
40. Kotter, L., G. Pfeiffer und E. Salamon : Zur Herstellung und Beurteilung von Gulaschkonserven. Fleischwirtschaft 46 (1966) 395 ;
41. Kotter, L., G. Krauß und G. Pfeiffer : Der Fleischanteil als entscheidendes Kriterium für die Beurteilung von Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft 49 (1969), 1465 ;
42. Kotter, L., und A. Palitzsch : Zur Wirkung und Prüfung von Kutterhilfsmitteln. Fleischwirtschaft 48 (1968), 617 ;

43. Kotter, L., und G. Terplan : Neue Erkenntnisse bei der Herstellung von Fleischwaren unter besonderer Berücksichtigung der verfügbaren und der zulassungsbedürftigen Zusatzstoffe.
Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 169;
44. Kraus, H., und R. Könekamp : Die Analyse von Fleischmengen und Wurstwaren durch Sedimentierung.
Arch. Lebensmittelhyg. 13 (1962), 101;
45. Krauß, G., G. Pfeiffer und H. Baas : Zur Bestimmung des Muskelfleischanteils in Fleischgemengen mittels des Auskochverfahrens.
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 190;
46. Krüger, H. und D. Großklaus : Untersuchungen zum serologischen Nachweis von Sojaprotein in erhitzten Fleischerzeugnissen.
Fleischwirtschaft 30 (1970), 1529 (1. Mitt.); 51 (1971), 181 (2. Mitt.) u. 51 (1971), 315 (3. Mitt.);
47. Langner, H.J. : Vergleichende Untersuchungen nach dem Auskochverfahren durch Kochen in Wasser und dem Verfahren mit Weinsäure.
Protokoll des 19. Fortbildungslehrganges des Senators für Arbeit, Gesundheit und Soziales für in Veterinäruntersuchungsämtern amtlich tätige Tierärzte vom 11. - 13. Dez. 1968 in Berlin;
48. Langner, H.J. : Zur Analytik und Beurteilung von Fleischproduktion nach dem Muskeleiweißgehalt mit Hilfe eines Schnellverfahrens (Phosphatpuffermethode).
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1391;

49. Lawrie, R.A. : Fleischkunde
BLV Verlagsgesellschaft, München-Basel-
Wien 1966 ;
50. Linke, H., und W. Woltersdorf : Zur Untersuchung und
Beurteilung der Qualität von Gulasch-
konserven.
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 49 ;
51. Locker, R.H. : Proteolysis in the storage of beef.
J. Sci. Food Agric. 11 (1960), 520 ;
52. Maier, G. : Leitfaden moderner Methoden der Lebens-
mittelanalytik (Optische Methoden).
Dr. Dietrich Steinkopff Verlag,
Darmstadt 1966 ;
53. McIntosh, E.N. : Post-mortem changes in protein
extractability in beef, pork and chicken
muscle.
J. Food Sci. 32 (1967) 208 ;
54. Meienhofer, J., und H. Zahn : Eiweiß. Allgem. Teil
A. Gewinnung und Reindarstellung von
Proteinen.
In : Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch
der physiologischen- und pathologisch-
chemischen Analyse.
Bausteine des Tierkörpers, II, Band IV/1
10. Auflage
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1960, S. 1 ff ;

55. Meyer, K.H., und H.H. Weber : Das kolloide Verhalten
der Muskeleiweißkörper.
V. Das Mengenverhältnis der Muskel-
eiweißkörper in seiner Bedeutung für die
Struktur des quergestreiften Kaninchen-
muskels.
Biochem. Z. 266 (1933), 137;
56. Möhler, K., und N. Antonacopulos : Chemische Bestimmung
von Bindegewebe in Fleisch und seinen
Zubereitungen.
Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 106 (1957),
426;
57. Montag, A. : Beitrag zur UV-spektralphotometrischen
Bestimmung von Protein in Fleischwaren.
Mitt.-Bl. d. GDCh-Fachgr. Lebensmittel-
chemie und gerichtl. Chemie 27 (1973), 61;
58. Muralt, A.v., and J.T. Edsall : Studies on the physical
chemistry of muscle globulin (myosin).
III. The anisotropy of myosin.
J. Biol. Chem. 89 (1930), 315;
zit. nach : H. Reichel (69), S. 84;
59. Needham, J., S.C. Shen, D.M. Needham and A.S.C. Lawrence :
Myosin birefringence and adenylyl-
pyrophosphate.
Nature 147 (1941), 766;
60. Niinivaara, F., und M. Pohja : Zur Theorie der Wasser-
bindung des Fleisches.
Fleischwirtschaft 6 (1954), 192;

61. Pendl, I., und K. Felix : Eiweiß, deskriptiver Teil.
In : Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handbuch
der physiologisch- und pathologisch-
chemischen Analyse.
Bausteine des Tierkörpers, II, Band IV/1
10. Auflage
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1960, S. 212 ff;
62. Perry, S.V., and A. Corsi : Extraction of proteins other than
myosin from the isolated rabbit myofibril.
Biochem. J. 68 (1958), 5;
63. Pfeiffer, G. : Aktuelles zur Lebensmittelüberwachung
Arch. Lebensmittelhyg. 14 (1963), 129;
64. Prändl, O. : Grundlagen für die quantitative Auswertung
histologischer Präparate.
Arch. Lebensmittelhyg. 11 (1960), 241;
65. Prändl, O. : Die histologische Analyse von Wurstwaren.
Grundlage für die quantitative Auswertung
histologischer Präparate.
Gerhard Röttger Verlag, München 1961;
66. Prändl, O. : Weitere Studien über den Einfluß der mecha-
nischen Zerkleinerung auf die Extrahierbar-
keit des fibrillären Muskeleiweißes bei der
Brühwurstherstellung.
Festschrift der Wiener Tierärztlichen
Monatsschrift 1964, S. 296;

67. Quinn, J.R., A.M. Pearson and J.R. Brunner : Detection
and isolation of multiple myoglobins
from beef muscle.
J. Food Sci. 29 (1964), 422;
68. Portzehl, H., G. Schramm und H.H. Weber : Actomyosin
und seine Komponenten.
I. Mitteilung
Z. Naturforsch. 5b (1950), 61;
69. Reichel, H. : Muskelphysiologie
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1960;
70. Saffle, R.L., and I.W. Galbreath : Quantitative determination
of saltsoluble protein in various types of meat.
Food Techn. 18 (1964), Nr. 12, 119;
71. Saffle, R.L. : Meat emulsion.
Advanc. Food Res. 16 (1968), 105;
72. Salamon, E. : Zur Objektivierung der Beurteilung von
Gulaschkonserven.
Vet. med. Diss. München 1965;
73. Sarkar, N.K. : The effect of ions and ATP on myosin and
actomyosin.
Enzymologia 14 (1950), 237;
74. Schmidt, G.E. : Die Urastrat-Methode zur quantitativen Er-
fassung des flüchtigen ammoniakalischen
Stickstoffes im Fleisch.
Fleischwirtschaft 52 (1972), 890;

75. Schneider, E. : Zur Erfassung und Beurteilung von Zusätzen an Nichteiweißstickstoffsubstanzen zu Fleischerzeugnissen.
Vet. med. Diss. München 1972;
76. Schönberg, F. : Zur Untersuchung und Beurteilung von deutschem Corned beef und deutschem Kraftfleisch.
Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 232;
77. Schönberg, F. : Über das mikroskopisch nachweisbare Verhalten des Kollagens und der Bindegewebssubstanzen bei der Brühwurstherstellung.
Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 133;
78. Schönberg, F. : Zu den möglichen Fehlerquellen bei der histometrischen Ermittlung des Kollagen- bzw. Gelatinegehaltes bei Brühwürsten.
Arch. Lebensmittelhyg. 14 (1963), 118;
79. Schramm, G., und H.H. Weber : Über monodisperse Myosinlösungen.
Kolloid. Z. 100 (1942), 242;
80. Sinell, H.J. : Histometrische Untersuchungen mit dem Leitz Integrationstisch zur Bestimmung des Kollagenanteils in zerkleinertem Fleisch.
Arch. Lebensmittelhyg. 11 (1960), 147;
81. Spicer, S.S., and W.J. Bowen : Reactions of inosine- and adenosine-triphosphates with actomyosin and myosin.
J. Biol. Chem. 188 (1951), 741;

82. Stegemann, H. : Zur Bestimmung des Hydroxyprolin-
gehaltes in Fleischwaren nach Stegemann.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 837;
83. Straub, F.B. : Actin I
Stud. Inst. Med. Chem.,
Univ. Szeged 2 (1942), 3;
84. Straub, F.B. : Actin II
Stud. Inst. Med. Chem.,
Univ. Szeged 3 (1943), 38;
85. Streichan, D. : Versuch zur Qualitätsuntersuchung von
Brühwürsten nach dem Sedimentierver-
fahren.
Arch. Lebensmittelhyg. 16 (1965), 12;
86. Strobl, A. : Untersuchungen über die Denaturierung
von Muskeleiweißkörpern bei der Fleisch-
zerkleinerung.
Vet. med. Diss. München 1957;
87. Szent-Györgyi, A.G. : Chemistry of muscular contraction.
Academic Press, New York 1951;
88. Szent-Györgyi, A.G. : A new method for the preparation
of actin.
J. Biol. Chem. 192 (1951), 361;
89. Szent-Györgyi, A.G., and M. Borbiri : Depolymerisation
of light meromyosin by urea.
Arch. Biochem. Biophys. 60 (1956), 180;
90. Trautman, J.C. : Effect of temperatur and p_H on the soluble
proteins of ham.
J. Food Sci. 31 (1966), 409;

91. Tsao, T.C. , and K. Bailey : The extraction, purification
and some chemical properties of actin.
Biochim. Biophys. Acta 11 (1953), 102;
92. Tsao, T.C. , K. Bailey and G.S. Adair : The size, shape
and aggregation of tropomyosin particles.
Biochem. J. 49 (1951), 27;
93. Weber, H.H. : Das kolloidale Verhalten der Muskeleiweiß-
körper. II. Isoelektrischer Punkt und Lös-
lichkeit des Myosins.
Biochem. Z. 158 (1925), 473;
94. Weber, H.H. : Der Feinbau und die mechanischen Eigen-
schaften des Myosinfadens.
Pflüg. Arch. 235 (1934), 205;
95. Weber, H.H. : Die Muskeleiweißkörper und der Feinbau
des Skelettmuskels.
Ergebn. Physiol. 36 (1934), 109;
96. Weber, H.H. : Muskelproteine.
Biochim. Biophys. Acta 4 (1950), 12;
97. Weber, H.H. , und H. Portzehl : Kontraktion, ATP-Zyklus
und fibrilläre Proteine des Muskels.
Ergebn. Physiol. 47 (1952 b), 369;

Am Ende meiner Arbeit möchte ich
Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. L. Kotter
für die Überlassung des Themas und
die kritische Durchsicht des Manuskripts
sehr herzlich danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt
Fräulein Dr. Ch. Herrmann für
die wertvollen Anregungen und die
immer gewährte Unterstützung.

Frau Maria de Tavera bin ich
für die Unterstützung bei der
technischen Durchführung der
Versuche zu besonderem Dank
verpflichtet.

Lebenslauf

Am 25. Dez. 1943 wurde ich als Sohn des Optikers Georg Gebhardt und dessen Ehefrau Brigitte, geb. Knoll, in Isny (Allgäu) geboren.

Nach Abschluß der Volksschule in München besuchte ich das Theresiengymnasium in München und legte dort am 19. Juli 1966 das Abitur ab.

Im Wintersemester desselben Jahres schrieb ich mich an der Universität München für das Studium der Tiermedizin ein, das ich am 14. März 1973 mit dem Staatsexamen abschloß.

Am 18. Juli 1973 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.

